



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

(21) BR 112020023252-1 A2



(22) Data do Depósito: 15/05/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 23/02/2021

(54) **Título:** COMPOSIÇÃO DO AGENTE TERAPÊUTICO E MÉTODO DE USO PARA TRATAMENTO DE DEFICIÊNCIA COGNITIVA LEVE, DEPRESSÃO E DISTÚRBIOS PSICOLÓGICOS.

(51) **Int. Cl.:** A61K 38/05; A61K 38/12; A61K 38/18; A61P 25/00.

(30) **Prioridade Unionista:** 15/05/2018 US 62/671,485; 15/05/2018 US 62/671,466; 22/05/2018 US 62/674,855.

(71) **Depositante(es):** LLOYD HUNG LOI TRAN.

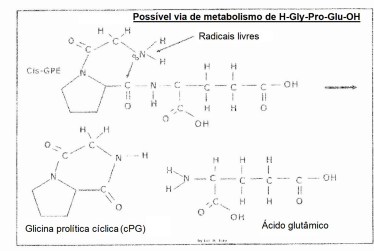
(72) **Inventor(es):** LLOYD HUNG LOI TRAN.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2019032403 de 15/05/2019

(87) **Publicação PCT:** WO 2019/222339 de 21/11/2019

(85) **Data da Fase Nacional:** 13/11/2020

(57) **Resumo:** COMPOSIÇÃO DO AGENTE TERAPÊUTICO E MÉTODO DE USO PARA TRATAMENTO DE DEFICIÊNCIA COGNITIVA LEVE, DEPRESSÃO E DISTÚRBIOS PSICOLÓGICOS. A presente invenção geralmente se refere ao uso de Prolil Glicina cíclica ("PG cíclico" ou "cPG") e seus análogos e miméticos como agentes neuroprotetores para o tratamento e/ou prevenção de comprometimento cognitivo e distúrbios neurológicos, incluindo, mas não se limitando, a isquemia cerebral ou enfarte cerebral, estado de mal epiléptico, asfixia perinatal, anóxia e trauma cerebral, bem como para o tratamento e prevenção de doenças neurodegenerativas crônicas, como doença de Alzheimer, doença de Parkinson e doença de Huntington, e como anticonvulsivantes. A presente invenção também fornece geralmente métodos de fabricação para preparar formas de dosagem. A presente invenção refere-se ainda genericamente ao uso de Prolil Glicina cíclica e seus análogos e miméticos como agentes neuroprotetores e neuro-regeneradores para o tratamento e ou prevenção de depressão e outros distúrbios psicológicos.



**COMPOSIÇÃO DO AGENTE TERAPÊUTICO E MÉTODO DE UTILIZAÇÃO,  
PARA O TRATAMENTO DE DEFICIÊNCIAS COGNITIVAS LIGEIRAS, DEPRESSÃO E  
DISTÚRBIOS PSICOLÓGICOS**

**REFERÊNCIA CRUZADA A APLICAÇÕES RELACIONADAS**

[001] Este pedido reivindica o benefício de prioridade para o número de série 62/674.855 do pedido de patente dos EUA, apresentado a 22 de Maio de 2018; número de série 62/671.485 do pedido de patente dos Estados Unidos, apresentado a 15 de Maio de 2018; e número de série 62/671.466 do pedido de patente dos Estados Unidos, apresentado a 15 de Maio de 2018, cada um dos quais é incorporado por referência aqui na sua totalidade.

[002] O Inventor Lloyd Hung Loi Tran reflete uma alteração do nome legal da Loi H. Tran.

**CAMPO DA INVENÇÃO**

[003] A presente invenção relaciona-se geralmente com novos compostos cíclicos de dipeptídeos estruturalmente relacionados com as revistas de diquetopiper e métodos para o seu uso terapêutico. Em particular, esta invenção relaciona-se com a actividade neuroprotectora e neurogénica de tais compostos. Em particular, a presente invenção relaciona-se com a utilização de glicina prolítica cíclica ("GP cíclico" ou "cPG") e análogos de cPG e compostos de cPG, seus análogos farmacologicamente eficazes, e suas composições farmacêuticas no tratamento e prevenção de perturbações cognitivas e neurodegenerativas conexas e perturbações psicológicas.

[004] A presente invenção está também geralmente relacionada com materiais e métodos de regeneração de neurónios e células gliais ou um método de reparação de neurónios e células gliais danificadas.

**ANTECEDENTES**

[005] A deficiência cognitiva ligeira ("DCL") é uma síndrome definida como um declínio cognitivo maior do que o esperado para a idade e nível de educação de um indivíduo. As deficiências cognitivas ligeiras são aquelas que envolvem deficiências da memória e outras funções de cognição, para além da norma etária mas que não conduzem à característica da demência.

[006] A prevalência de ICM varia de acordo com a idade. A prevalência de ICM entre diferentes grupos etários é a seguinte: 6,7% para os 60-64 anos; 8,4% para os 65-69 anos, 10,1% para os 70-74 anos, 14,8% para os 75-79 anos, e 25,2% para os 80-84 anos. Mais de metade do progresso das pessoas com ICM progride para a demência dentro de 5 anos. (Petersen RC, Lopez O, Armstrong MJ, Getchius T, Ganguli M, Gloss D, Gronseth GS, Marson D, Pringsheim T, Day GS, Sager M, Stevens J, Rae-Grant A (Janeiro de 2018). "Practice guideline update summary: Mild cognitive impairment - Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology". *Neurologia*. Artigo especial. 90 (3): 1-10. :10.1212/WNL.0000000000004826. [https://en.wikipedia.org/wiki/PubMed\\_Identifier](https://en.wikipedia.org/wiki/PubMed_Identifier) \o "PubMed Identifier 29282327).

[007] Demência é um termo geral que descreve um grupo de sintomas associados a um declínio na memória ou outras capacidades de pensamento suficientemente severas para reduzir a capacidade de uma pessoa de realizar actividades diárias. A doença de Alzheimer é responsável por 60 a 80 por cento destes tipos de casos. A demência vascular, que ocorre após um AVC, é o segundo tipo mais comum de demência. Mas existem muitas outras condições que podem causar sintomas de demência, incluindo algumas que são reversíveis, tais como problemas de tiróide e deficiências vitamínicas. Embora os sintomas de demência possam variar muito, pelo menos duas das seguintes funções mentais centrais devem ser significativamente prejudicadas para serem consideradas demência: memória, comunicação e linguagem, capacidade de focar e prestar atenção, raciocínio e julgamento, e percepção visual.

[008] Há mais de 5,5 milhões de pessoas nos EUA e 50 milhões de pessoas em todo o mundo que sofrem da doença de Alzheimer em 2018. (Ref: Alzheimer's Disease International's World Alzheimer Report 2018) O crescimento da prevalência da doença de Alzheimer nas próximas décadas deverá resultar numa grande pressão sobre os sistemas sociais e de saúde das economias desenvolvidas e em desenvolvimento. Existe uma longa necessidade não satisfeita de terapias que parem, substancialmente lentas, lentas ou que

melhorem a progressão, os sintomas, ou que proporcionem conforto ou cuidados paliativos para esta doença e doenças relacionadas.

[009] Ramon y Cajal, um investigador pioneiro no início do século XX, escreveu: "A especialização funcional do cérebro impôs aos neurónios duas grandes lacunas; incapacidade proliferativa e irreversibilidade da diferenciação intraprotoplasmática. É por esta razão que, uma vez terminado o desenvolvimento, as fontes de crescimento e regeneração dos axónios e dendritos secaram irrevogavelmente" (Ramón y Cajal, Santiago; L. Azoulay (1894). *Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux chez l'homme et chez les vertébrés*" (Novas ideias sobre a fina anatomia dos centros nervosos). Esta hipótese, embora anteriormente considerada o princípio fundamental da neurociência, datada do final do século XIX a meados do século XX, provou agora ser inválida.

[010] Em 1966 Altman e Gopal demonstraram a evidência da neurogênese de mamíferos adultos em hipocampo roedor e outra região do cérebro. Relatou os estudos autorradiográficos e histológicos da neurogênese pós-natal, em que a proliferação celular e a migração no cérebro anterior, com especial referência à neurogênese persistente no bulbo olfativo. ((Altman J. (1966) e D. Gopal. "Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats" *Journal of Comparative Neurology*-Volume124, Issue 3, Junho 1965 (<https://doi.org/10.1002/cne.901240303>)).

[011] Na experiência de Altman, o cérebro intacto de mamífero adulto, a neuroregeneração mantém a função e a estrutura do sistema nervoso central (SNC). A timidina H3 foi injectada intraperitonealmente em ratos de 6 e 13 dias de idade e viveram depois por períodos que variaram entre uma hora e 60 dias. Dados autorradiográficos obtidos de animais que sobreviveram durante curtos períodos foram utilizados para estimar as taxas de proliferação celular regional. Animais com maior sobrevivência foram utilizados para deduzir os movimentos de novas células de sítios germinativos, através de canais migratórios, para áreas-alvo, e para determinar o seu modo de diferenciação. A formação e diferenciação dos microneurões prossegue durante a infância, embora na maioria das estruturas a uma taxa decrescente. A multiplicação celular continuou a uma taxa muito elevada na camada

granular externa do córtex cerebelar, de onde as células migraram para a camada molecular e camada granular interna.

[012] Foi demonstrado que, de facto, os neurónios adultos regenerados estão integrados no circuito cerebral existente, e contribuem para melhorar os défices neurológicos (Nakatomi H. Kuriu T. Okabe S. Yamamoto S. Hatano O. Kawahara N. Tamura A. Kirino T. Nakafuku M- Regeneração de neurónios hipocampais piramidais após lesão cerebral isquémica através do recrutamento de progenitores neurais endógenos. *Célula* 110:429-441, 2002.

[013]Curiosamente, as observações também demonstraram que a neurogénese não está a ocorrer apenas ao nível do bulbo olfactivo e do hipocampo. A este respeito foi sugerido por Zhao et al. que este processo também pode ocorrer na substância nigra do rato adulto, abrindo um novo campo de investigação para o tratamento de doenças neurogénicas (Zhao M. Momma S. Delfani K. Carlen M. Cassidy R M. Johansson C B. Brismar H. Shupliakov O. Frisen J. Janson A M (2003) Evidence for neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:7925-7930)

[014] De acordo com um artigo de revisão de Guo-li Ming, desde a descoberta da neurogenese do hipocampo de rato pós-natal, os investigadores estabeleceram agora firmemente que a neurogenese activa dos progenitores neurais continua ao longo da vida em regiões discretas do sistema nervoso central (SNC) de todos os mamíferos, incluindo humanos. (Guo-li Ming H. S. (2005). "Neurogénese Adulta no Sistema Nervoso Central dos Mamíferos". *Annu. Rev. Neurosci.* 28: 223–250. PMID 16022595)

[015] Foram feitos progressos significativos na compreensão do processo de desenvolvimento e regulação da neurogénese de adultos, incluindo a proliferação, a especificação do destino, a maturação neuronal, a focalização, e a integração sináptica dos neurónios recém-nascidos.

[016] Embora o mecanismo exacto que mantém as células estaminais neuronais funcionais (CNA) nestas regiões seja elusivo, os CNA têm demonstrado uma capacidade de restaurar neurónios e glia em resposta a certas condições patológicas.

[017] A depressão é um distúrbio de saúde mental caracterizado por um humor persistentemente deprimido ou perda de interesse em actividades, causando uma deficiência significativa na vida diária. É uma condição muito comum que afecta cerca de 1 em cada 5 indivíduos nos EUA. Muitos factores podem causar depressão, incluindo genes, factores como o stress e a química do cérebro. Segundo John Geddes, professor de psiquiatria epidemiológica na Universidade de Oxford, "a depressão é o maior contribuinte para a incapacidade global que temos - um enorme desafio para a humanidade", afecta cerca de 350 milhões de pessoas em todo o mundo e os casos aumentaram quase 20% entre 2005-2015 (Organização Mundial de Saúde e Centro de Controlo de Doenças).

[018] Nos últimos anos, muito esforço de investigação tem sido investido no estudo da depressão mental e em métodos para o seu tratamento. Embora uma série de medicamentos no mercado possa melhorar a depressão, todos eles têm efeitos secundários indesejáveis. Foi recentemente relatado que um dos efeitos secundários graves da depressão é o suicídio, que se tornou praticamente numa única causa de morte por doença mental.

[019] A presente invenção fornece um método para o tratamento da depressão sem efeitos secundários graves. De acordo com este método, o Prolyl Glycine cíclico e os seus análogos farmacologicamente eficazes foram demonstrados como um tratamento potencial para um paciente que sofre de depressão.

### **RESUMO DA INVENÇÃO**

[020] Um aspecto que a invenção fornece compostos cíclicos de Prolyl Glycine adequados ao tratamento e prevenção de doenças e lesões em animais e seres humanos. O PG cíclico sendo seleccionado do grupo que inclui cPG, análogos cPG, peptidomiméticos cPG e compostos relacionados que promovem ou causam a formação de análogos cPG ou cPG in vivo.

[021] Um exemplo de análogos de cPG é cíclico (glycyl-L-prolylglycyl-L-prolylglycyl-L-prolyl) ou abreviado como cíclico(tri(Pro-Gly)) ou referido aqui como c(PG)<sub>3</sub>.

[022] Outro exemplo dos análogos cPG é o Glycyl-2-Allyl Proline cíclico, ou Glycyl-Alkyl Proline cíclico aqui referido como "cGAL".

[023] Colectivamente a cPG, c(PG)<sub>3</sub>, cGAL, e Cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline, e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis, são aqui referidos colectivamente como os "compostos cPG".

[024] Também, Cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline é um composto que pertence ao grupo de compostos cíclicos Glycyl-2-Alkyl Proline).

[025] Além disso, qualquer um dos compostos de cPG, seus derivados, análogos e similares, tal como aqui divulgados ou conhecidos na arte, pode ser fornecido sob a forma de um sal farmaceuticamente aceitável.

[026] De preferência, os compostos de cPG são administrados numa composição farmaceuticamente aceitável, tal como um portador farmaceuticamente aceitável.

[027] Mais preferencialmente a composição inclui adicionalmente uma quantidade terapêutica de um composto de cPG em combinação com um composto seleccionado de factores de crescimento e derivados associados (factor de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I), factor de crescimento semelhante à insulina-II (IGF-II), GPE, factor de crescimento transformador- $\beta$ , activina, hormona de crescimento, factor de crescimento nervoso, proteína de ligação à hormona de crescimento, proteínas de ligação JQF (especialmente JGFBP-3), factor de crescimento básico do fibroblasto, factor de crescimento ácido do fibroblasto, o produto genético hst/Kfgk, FGF-3, FGF-4, FGF-6, factor de crescimento de queratinócitos, factor de crescimento induzido pelo androgénio. Outros membros da família FGF incluem, por exemplo, int-2, factor de crescimento de fibroblasto homólogo 1 (FHF-1) FHF-2 FHF-3 e FHF-4, factor de crescimento de caratinócitos 2, factor de activação glial, FGF- 10 e FGF- 16, factor neurotrófico ciliar, factor de crescimento derivado do cérebro, neurotrofina 3, neurotrofina 4, proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2), factor neurotrófico derivado da linha de células glial, factor neurotrófico dependente de actividade, factor inibidor da leucemia de citocinas, oncostatina M, interleucina),  $\beta$ ,  $\alpha$ ,  $\chi$  ou interferon de consenso, TNF- $\alpha$ ; clometiazol; ácido cinurénico, Semax, FK506 [tacrolimus],

L-treo-1-fenil-2-decanoylamino-3-morfolino-1-propanol, andrenocorticotropina-(4-9\_analógico [ORG2766] e dizolcipina [MK-801], selegilina; formigas glutamato como, NPSI506, GV1505260, MK-801, GV150526; formigas AMPA tais como, 2,3-dihidroxi-6-nitro-7- sulfamoylbenzo (f)quinoxalina (NBQX), LY303070 e LY300164; agentes anti-inflamatórios dirigidos contra o endereço em MAdCAM-1 e/ou integrando receptores  $\alpha 4$  ( $\alpha 4\beta 1$  e  $\alpha 4\beta 7$ ), tais como anti-MAdCAM-1ImAb MECA-367 (adesão ATCC no. (HB-9478), interferões incluindo interferão beta 1b e interferão alfacon-1.

[028] De preferência, os compostos de cPG podem ser utilizados no tratamento ou prevenção de danos celulares ou morte celular em resposta a doenças e lesões resultantes de choque séptico, isquemia, administração de citocinas, sobreexpressão de citocinas, úlceras, gastrite, colite ulcerosa, doença de Crohn, diabetes, artrite reumatóide, asma, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose múltipla, AVC, cirrose, rejeição de aloenxertos, rejeição de transplantes, encefalomielite, meningite, pancreatite, peritonite, vasculite, coriomeningite linfocítica glomerulonefrite, uveíte, glaucoma, blefarite, calazion, doença alérgica dos olhos, úlcera da córnea, ceratite, catarata, distúrbios da retina, degeneração macular relacionada com a idade, ileíte neurite óptica, inflamação induzida pela produção excessiva de citocinas inflamatórias, choque hemorrágico, choque anafilático, queimadura, infecção que leva à produção excessiva de citocinas inflamatórias induzidas por bactérias, vírus, fungos e parasitas, hemodiálise, síndrome de fadiga crônica, acidente vascular cerebral, câncros, doenças cardiovasculares associadas à produção excessiva de citocinas inflamatórias, doença cardíaca, bypass cardiopulmonar, lesão isquêmica/reperfusão, lesão isquêmica/reperfusão associada à produção excessiva de citocinas inflamatórias, síndrome do choque tóxico, síndrome do desconforto respiratório do adulto, caquexia, miocardite, doenças auto-imunes, eczema, psoríase, insuficiência cardíaca, dermatite, urticária, isquemia cerebral, lúpus eritematoso sistêmico, SIDA, demência SIDA, doença neurodegenerativa crônica, dor crônica, priapismo, fibrose cística, esclerose lateral amiotrófica, esquizofrenia, depressão, síndrome pré-menstrual, ansiedade, dependência, enxaqueca, doença de Huntington, epilepsia, perturbações da motilidade

gastrointestinal, obesidade, hiperfagia, neuroblastoma, malária, cancros hematológicos, mielofibrose, lesão pulmonar, doença do enxerto-versus-hospedeiro, lesão da cabeça, Traumatismo do SNC, hepatite, insuficiência renal, hepatite C crónica, envenenamento por paraquat, rejeição e preservação de transplantes, aumento da fertilidade, translocação bacteriana, choque circulatório, choque traumático, hemodiálise, ressaca, e combinações de duas ou mais destas.

[029] De preferência, os compostos de cPG podem ser utilizados na restauração da mielinização de axónios em mamíferos onde a mielina se esgotou devido a lesão ou doença neural.

[030] De preferência, o composto de cPG pode ser utilizado na restauração da mielinização onde a mielinização se esgotou devido a trauma, exposição a toxinas, asfíxia ou hipoxia-iscémia, lesão perinatal hipóxico-isquémica, lesão ou doença da matéria branca do SNC, lesão cerebral aguda, doença neurodegenerativa crónica incluindo esclerose múltipla, e doenças e distúrbios desmielinizantes incluindo encefalomielite aguda disseminada, neurite óptica, mielite transversal, doença de Devic, leucodistrofias; envolvimento não-inflamatório; leucoencefalopatia multifocal progressiva, e mielinólise pontina central.

[031] De preferência, o composto cPG pode ser administrado em combinação com IGF-1 ou um interferão.

[032] Outro aspecto relacionado com a invenção relaciona-se com um método de tratamento ou prevenção de danos celulares ou morte celular em resposta a lesões e doenças através da administração de pelo menos um composto de cPG.

[033] De preferência, o composto de cPG pode ser administrado entre cerca de 1 µg a cerca de 150 mg por quilograma de peso corporal. Uma dose adequada para administração de cPG pode ser, por exemplo, de preferência mas não limitada a entre cerca de 0,1 mg a cerca de 100 mg por quilograma de peso corporal, entre cerca de 1 mg a cerca de 100 mg por quilograma de peso corporal, entre cerca de 5 mg e cerca de 70 mg por quilograma de peso corporal, entre cerca de 10 mg a cerca de 50 mg por quilograma de peso corporal, ou entre cerca de 20 mg a cerca de 40 mg por quilograma de peso corporal. A dose, via de

administração e regime do cPG podem ser diferentes para diferentes doenças, distúrbios e condições. Como exemplo, uma deficiência cognitiva ligeira pode ter uma dose inferior utilizando a mesma ou diferente via de administração do que para a doença de Alzheimer.

[034] Por exemplo: uma dose típica para doentes com uma deficiência cognitiva ligeira pode ser entre cerca de 0,2 mg a cerca de 1 mg por dia administrada oralmente (por exemplo, tomar 1 cápsula de 20 mg ou 2 cápsulas por dia por prescrição médica). Enquanto que uma doença de Alzheimer mais grave ou uma patente de lesão cerebral traumática grave pode ser administrada por via intravenosa numa gama entre cerca de 50 mg a cerca de 300 mg por dia. Os detalhes da dose, via de administração e regime para uma determinada doença, desordem ou condição podem ser avaliados em geral ou para um determinado sujeito ou paciente.

[035] Um outro aspecto da invenção diz respeito a um método de restauração da mielinização de axónios num mamífero que necessita de mielinização restaurada devido a lesão ou doença neural, incluindo a administração de uma quantidade terapêutica de um composto de cPG, em que um composto de cPG inclui cPG, um análogo de cPG biologicamente activo como o c(PG)3 e cGAL, um peptidomimético de cPG biologicamente activo, um composto que aumenta a concentração de cPG, ou um composto que aumenta a concentração de análogos de cPG, eficaz para restaurar a mielinização dos axónios num mamífero. Num aspecto da invenção, o método de restauração da mielinização de axónios que consiste em administrar uma quantidade terapêutica de um composto de cPG inclui a estimulação de astrocitos para promover a remielinização. Num outro aspecto da invenção, o método de restauração da mielinização de axónios que inclui a administração de uma quantidade terapêutica de um composto de cPG inclui a estimulação de oligodendrócitos para produzir mielina.

[036] Num outro aspecto da invenção, o método de restauração da mielinização dos axónios a um mamífero que necessita de mielinização restaurada inclui ainda a administração de uma quantidade terapêutica de um composto de cPG em combinação com um composto seleccionado de IGF-I ou um interferão. Num aspecto da invenção, o método de restauração

da mielinização dos axónios compreende a administração de uma quantidade terapêutica de um composto de cPG em combinação com IGF-I ou um interferão para estimular as astrócitos a promover a remielinização. Noutro aspecto da invenção, o método de restauração da mielinização dos axónios que consiste em administrar uma quantidade terapêutica de cPG em combinação com IGF-I ou um interferão para estimular os oligodendrócitos a produzir mielina. Nas encarnações preferidas, o interferão compreende o interferão beta 1b (Betaseron). Numa outra encarnação preferida, o interferão inclui interferão de consenso (Infergen®, interferão alfacon-I).

[037] Ainda num outro aspecto da invenção, os métodos para tratar ou prevenir danos celulares e a morte em resposta a lesões e doenças, incluem a administração de uma quantidade terapêutica de um composto de cPG, de preferência mas não limitada a uma quantidade entre cerca de 10 µg a cerca de 150 mg de cPG por kg de peso corporal do mamífero. Uma dose adequada para a administração de cPG pode ser, por exemplo, de preferência mas não limitada a uma quantidade entre cerca de 0,1 mg a cerca de 100 mg por quilograma de peso corporal, entre cerca de 1 mg a cerca de 100 mg por quilograma de peso corporal, entre cerca de 5 mg e cerca de 70 mg por quilograma de peso corporal, entre cerca de 10 mg a cerca de 50 mg por quilograma de peso corporal, ou entre cerca de 20 mg a cerca de 40 mg por quilograma de peso corporal. A dose, via de administração e regime do cPG podem ser diferentes para diferentes doenças, distúrbios e condições. [038] [038] Como exemplo, uma deficiência cognitiva ligeira pode ter uma dose inferior utilizando a mesma ou diferente via de administração do que para a doença de Alzheimer. Por exemplo: uma dose típica para doentes com uma deficiência cognitiva ligeira pode ser entre cerca de 10 mg a cerca de 50 mg por dia administrada oralmente (tomando 1 cápsula de 20 mg ou 2 cápsulas por dia por prescrição médica). Enquanto que uma doença de Alzheimer mais grave ou uma patente de lesão cerebral traumática grave pode ser administrada por via intravenosa numa gama entre cerca de 50 mg a cerca de 300 mg por dia. Os detalhes da dose, via de administração e regime para uma determinada doença, desordem ou condição podem ser avaliados em geral ou para um determinado sujeito ou paciente.

[039] Em mais um aspecto da invenção, o método de restauração da mielinização dos axónios a um mamífero que necessita de mielinização restaurada inclui ainda a administração de uma quantidade terapêutica de um composto de cPG em combinação com IGF-1 de cerca de 1 mg a cerca de 10 mg de IGF-I por 1 Kg de peso corporal do mamífero ou um interferão de cerca de 1,0 µg a cerca de 10 µg de IGF-I por Kg de peso corporal do mamífero. Numa encarnação preferida, o interferão é o interferão beta. Uma dose adequada para administração de cPG pode ser, por exemplo, de preferência mas não limitada a entre cerca de 0,1 mg a cerca de 100 mg por quilograma de peso corporal, entre cerca de 1 mg a cerca de 100 mg por quilograma de peso corporal, entre cerca de 5 mg e cerca de 70 mg por quilograma de peso corporal, entre cerca de 10 mg a cerca de 50 mg por quilograma de peso corporal, ou entre cerca de 20 mg a cerca de 40 mg por quilograma de peso corporal. A dose, via de administração e regime do cPG podem ser diferentes para diferentes doenças, distúrbios e condições. Como exemplo, uma ligeira deficiência cognitiva pode ter uma dose inferior utilizando a mesma ou diferente via de administração do que para a doença de Alzheimer. Por exemplo: uma dose típica para doentes com uma deficiência cognitiva ligeira pode ser entre cerca de 10 mg a cerca de 40 mg por dia administrada oralmente (tomando 1 cápsula de 20 mg ou 2 cápsulas por dia por prescrição médica). Enquanto que uma doença de Alzheimer mais grave ou uma patente de lesão cerebral traumática grave pode ser administrada por via intravenosa numa gama entre cerca de 50 mg a cerca de 300 mg por dia. Os detalhes da dose, via de administração e regime para uma determinada doença, desordem ou condição podem ser avaliados em geral ou para um determinado sujeito ou paciente.

[040] Numa outra encarnação preferida dos métodos para tratar ou prevenir danos celulares e morte em resposta a lesões e doenças, incluindo a administração de um composto de cPG, o composto de cPG é administrado ao mamífero através de uma derivação para um ventrículo do mamífero.

[041] Numa outra encarnação preferida dos métodos de tratamento ou prevenção de danos celulares e morte em resposta a lesões e doenças, incluindo a administração de um

composto de cPG, o composto de cPG é administrado ao mamífero por administração periférica.

[042] A presente invenção fornece um método de tratamento para estimular as astrocitos maduros a fim de promover a produção de mielina após lesão hipóxico-isquémica, incluindo a etapa de aumento da concentração activa de cPG e/ou a concentração de análogos de cPG no SNC dos mamíferos.

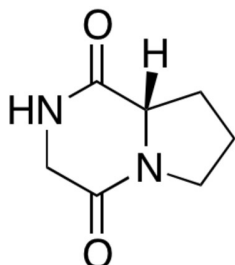
[043] De preferência, é a própria quantidade efectiva de IGF-I que é aumentada dentro do SNC dos mamíferos. Isto pode ser efectuado pela administração directa de um composto de cPG como o cPG, c(PG)<sub>3</sub> ou cGAL ou cGMeP e, de facto, esta é a solução preferida. No entanto, a administração de compostos que indirectamente aumentam a quantidade efectiva de IGF-I (por exemplo, um pró-fármaco que, dentro do paciente é clivado para libertar cPG) não é de forma alguma excluída.

[044] O composto activo (IGF-I ou o seu análogo ou o seu mimético) pode ser administrado sozinho, ou como é preferível, uma parte de uma composição farmacêutica.

[045] A composição pode ser administrada directamente ao SNC. A última via de administração pode envolver, por exemplo, uma injeção cerebroventricular lateral, uma injeção focal ou um shunt cirurgicamente inserido no cerebroventricle lateral do cérebro do paciente.

[046] Convenientemente, a estimulação e promoção da produção de mielina em oligodendrócitos e o apoio, estimulação e promoção da remielinização por astrocitos maduros é promovida através da administração de compostos de cPG na profilaxia ou terapia de doenças desmielinizantes tais como a esclerose múltipla.

[047] Como geralmente descrito no pedido de patente publicado nos EUA US20100247483A1 expressamente incorporado aqui por referência, o Prolyl Glycine cíclico ("PG cíclico" ou "cPG") tem a seguinte estrutura:

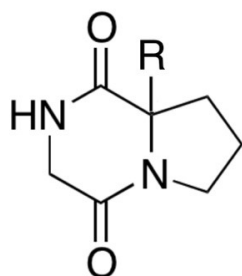


[048] Estrutura 1: Prolyl Glycine cíclico

(Esta estrutura e composto são também conhecidos como NA-831 e essas terminologias são aqui utilizadas indiferentemente).

[049] A presente invenção inclui novas revistas de diketopiper que estão estruturalmente relacionadas com o cPG.

[050] Um aspecto desta invenção fornece novelas cíclicas com libras, com a fórmula estrutural e os substitutos descritos abaixo.

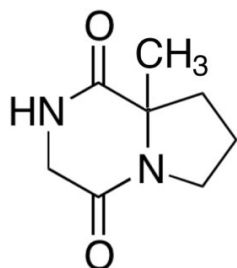


[051] Estrutura 2: Glycyl-2-Allyl Proline cíclico, ou Glycyl-Alkyl Proline cíclico aqui referido como "cGAL".

[052] Onde R pode ser um Alkyl" que se refere a uma cadeia ramificada saturada, recta ou radical cíclico de hidrocarbonetos. Os grupos alquilo exemplares incluem metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, terc-butil, ciclopropilmetilo, hexil e similares.

[053] Onde R pode ser um aliado, que se refere a um grupo é um substituto da fórmula estrutural  $H_2C=CH-CH_2R$ , onde R é o resto da molécula.

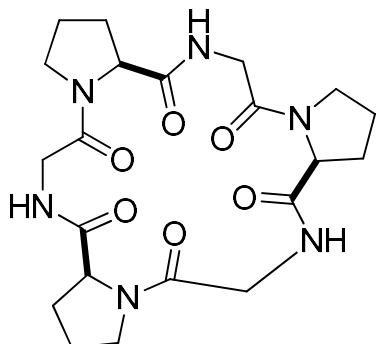
[054] Com R é um metilo, um aspecto da presente invenção que inclui o Cíclico Glycyl-2-Alkyl Proline é (8aS)-metil-hexahidropyrrolo[1,2-a]pirazina-1,4-diona, que é referido como Cíclico Glycyl-2-Metil-Proline ou CíclicoGMeP ou cGMeP.



[055] Estrutura 3:Cyclic G-2MeP (que está disponível para compra a fornecedores de polipeptídeos, tais como Bachem Americas, Inc.). (Torrance, Califórnia, EUA)).

[056] Em geral, c(PG)3 e cGAL podem ser preparados por métodos como já são bem conhecidos de pessoas de habilidade comum na arte da síntese do peptídeo e do peptídeo modificado. Ver, por exemplo, Bodanzsky: Princípios da Síntese do Peptídeo, Berlim, Nova Iorque: Springer-Verlag 1993. A síntese dos compostos de diketopiperazina desta invenção pode ser por síntese de fase de solução, como discutido nos Exemplos, ou através do método de síntese de fase sólida exemplificado por Merrifield et al. 1963 J. Amer. Chem. Soc.: 85, 2149-2156. Exemplos específicos da síntese de diketopiperazina podem ser encontrados em Fischer, 2003, J. Peptide Science: 9: 9-35 e respectivas referências. Uma pessoa de habilidade comum na arte não terá qualquer dificuldade, tendo em conta essa habilidade e os conhecimentos disponíveis, e desta divulgação, em desenvolver um ou mais métodos sintéticos adequados para compostos desta invenção.

[057] Na presente aplicação, nomeadamente mas não se limitando a esta secção onde são fornecidos nomes compostos e estruturas e abreviaturas, os vários compostos podem todos ser utilizados em todos os aspectos da presente invenção aqui incluídos. Por exemplo, se a cPG for indicada na especificação, então todos os outros compostos desta secção (e a aplicação como um todo) que são compostos de cPG e derivados relacionados, tais como mas não limitados a cGAL, estão incluídos nessa e noutras descrições, nomeadamente mas não limitados a métodos de tratamento de uma variedade de condições aqui descritas.



[058] Estrutura 4: uma estrutura possível para o cíclico (glicilproilglicilproilglicilproilglicilproil).

[059] A síntese química de Peptídeos Cíclicos (glycyl-L-prolylglycyl-L-prolyl) foi realizada conforme publicado no Israel Journal of Chemistry, Vol. 12, Nos. 1-2, 1974, pp. 15-29 "CYCLIC Peptides VII: The Synthesis and Characterization of Cyclic Peptides with Repeating Pro-Gly Sequences- por Charles M. Deber e Elkan R. Blout.

Síntese de Cyc/o(glycyl-L -prolyl-glycyl-L -prolyl-glycyl-L -prolyl)

[060] Uma solução de cloridrato de éster p-nitrofenílico (500 mg) dissolvido em dimetilformamida (DMF) (20 ml, seco sobre sulfato de sódio) foi adicionado gota a gota com agitação durante 6 horas a 500 ml de piridina de grau reagenário, à temperatura ambiente.

[061] A mistura de amarelo vivo foi constantemente agitada durante 48 horas, à temperatura ambiente. Os solventes foram removidos por um sistema de bomba de vácuo de alto vácuo com evaporador rotativo a 45°. O resíduo foi lavado com 20 ml de acetona que dissolveu o p-nitrofenol e o cloridrato de piridina, mas deixou a fracção péptida insolúvel. Os materiais insolúveis e a acetona foram transferidos para um frasco e permitiram que a acetona evaporasse a 45°. O material foi então dissolvido num mínimo de DMF. Demonstrou-se que o precipitado microcristalino branco era Cyc/o(glycyl-L -prolyl-glycyl-L -prolyl-glycyl-L -prolyl) (155 mg, com 28% de rendimento), formado complexado com DMF. A cristalização a partir do éter metanol de 100 mg deste material deu ciclo(Pro-Gly)<sub>3</sub> (55 mg) cristalino livre de DMF.

[062] Análise química: Calculado para C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>H<sub>2</sub>O : C, 52,49; H, 6,71; N, 17,49. Análise elementar encontrada C, 52,60; H, 6,81; N, 17,38.

[063] Ainda noutros aspectos, a presente invenção fornece composições farmacêuticas incluindo um excipiente ou portador farmacêuticamente aceitável e uma quantidade terapêutica eficaz de GP cíclico ou seus análogos com fórmulas estruturais dadas acima para tratar uma doença, desordem, ou condição, incluindo mas não se limitando à doença de Alzheimer e suas condições afins, tais como um comprometimento da função cognitiva.

[064] Em outros aspectos, a presente invenção fornece métodos de tratamento de um animal com uma deficiência cognitiva, incluindo a administração a esse animal de uma quantidade eficaz de uma composição que inclui o médico de família cíclico ou os seus análogos. Ainda em outros aspectos, o animal a ser tratado é um ser humano.

[065] Um aspecto da presente invenção é geralmente dirigido aos tratamentos terapêuticos de doenças e lesões neurológicas. Expressamente não desejam limitar-se a quaisquer mecanismos de acção, e apenas propor quaisquer mecanismos de acção, o(s) inventor(es) propõe(m) que a presente invenção pode, em parte, basear-se na indução da neurogênese, em particular, da célula estaminal neural, ou da proliferação de células progenitoras. De acordo com um aspecto da presente invenção, o Prolyl Glycine cíclico e seus análogos ("compostos de cPG") actuam como agentes moduladores chave da neurogênese que facilitam e induzem a proliferação e/ou diferenciação nas células neurais.

[066] A "neurogênese" é aqui definida como proliferação, diferenciação, migração, ou sobrevivência de uma célula neural in vivo ou in vitro. Num aspecto preferido da presente invenção, a célula neural pode ser uma célula estaminal neural adulta, fetal ou embrionária ou uma célula progenitora. Neurogênese refere-se também a um aumento líquido no número de células ou a um aumento líquido na sobrevivência celular. Tal como aqui utilizado, "NSC" incluiria, pelo menos, todas as células estaminais cerebrais, todas as células progenitoras do cérebro, e todas as células precursoras do cérebro.

[067] Foi previamente demonstrado que níveis aumentados de cAMP e/ou Ca<sup>2+</sup> provocam a proliferação de células estaminais neuronais adultas. Em alguns casos, esta indução

segue-se à activação de receptores acoplados à proteína G (GPCRs). O aumento dos níveis intracelulares de AMPc e/ou  $Ca^{2+}$  através de ligandos GPCR pode induzir o aumento da proliferação de células estaminais neuronais adultas.

[068] Os receptores acoplados à proteína G (GPCRs), também conhecidos receptores ligados à proteína G (GPLR), constituem uma grande família de receptores proteicos que detectam moléculas fora da célula e activam as vias internas de transdução de sinal e, em última análise, as respostas celulares.

[069] Os ligandos que ligam e activam estes receptores incluem compostos sensíveis à luz, odores, feromonas, hormonas, e neurotransmissores, e variam em tamanho desde pequenas moléculas a peptídeos e proteínas grandes. Os GPCRs no cérebro dos mamíferos ligam vários neurotransmissores diferentes, incluindo serotonina, dopamina, GABA, e glutamato. Os receptores de G acoplados a proteínas estão envolvidos em muitas doenças, e são também o alvo de aproximadamente 34% de todos os medicamentos modernos.

[070] Um aspecto da presente invenção inclui, e não sendo limitado por quaisquer mecanismos propostos, que o cPG e os seus análogos podem actuar como agentes moduladores da neurogénese que modulam os níveis intracelulares de cAMP e/ou  $Ca^{2+}$ . O cPG demonstrou ser química e biologicamente capaz de aumentar o cAMP (por exemplo, aumentando a síntese ou diminuindo a decomposição) e/ou  $Ca^{2+}$  (por exemplo, aumentando o influxo ou diminuindo o efluxo).

[071] Um aspecto da presente invenção descreve um novo método para promover a regeneração do tecido nervoso danificado, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de ciclo Prolyl Glycine (cPG), e os seus análogos, que podem reduzir a taxa de crescimento de células gliais para facilitar o crescimento de tecido nervoso.

[072] Os neurónios estão estreitamente rodeados de células gliais ou astrocídeos. Uma das dificuldades em conseguir a regeneração dos neurónios após terem sido danificados ou cortados é que as células gliais proliferam e formam uma barreira para os neurónios regeneradores. O resultado é que o movimento adicional dos neurónios em direcção aos

locais de ligação previstos é bloqueado e a regeneração da estrutura e função cessa. Tem-se observado que a formação de cicatrizes astrocíticas e de tecido conjuntivo e a necrose progressiva têm um impacto negativo na regeneração das funções neuronais.

[073] Consequentemente, um aspecto da presente invenção é um método para promover a regeneração do tecido nervoso danificado num mamífero (como um humano), compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de compostos de cPG (cPG e os seus análogos) ao local danificado.

[074] Alguns dos objectivos das experiências aqui fornecidas consistem em possibilitar um método de regeneração de neurónios e células gliais ou um método de reparação de neurónios e células gliais danificadas, como se afirma.

[075] Um aspecto da invenção inclui, que o Prolyl Glycine cíclico (cPG) e os seus análogos farmacologicamente activos actuam como agentes moduladores neuronais a fim de tratar a depressão e outros distúrbios psicológicos. O receptor N-metil-D-aspartato ("receptor NMDA"), é um receptor de glutamato e proteína do canal iónico encontrado nas células nervosas. O receptor NMDA é um dos três tipos de receptores de glutamato ionotrópico, sendo os outros os receptores AMPA e kainato. O receptor NMDA é activado quando o glutamato e a glicina se ligam a ele, e quando activado permite que iões com carga positiva fluam através da membrana celular [Furukawa, Hiroyasu; Singh, Satinder K; Mancusso1, Romina; Gouaux, Eric (Novembro de 2005)]. "Disposição e função da subunidade em receptores NMDA. *Natureza*. 438 (7065): 185-92. doi:10.1038/nature04089. PMID 16281028.].

[076] Os canais receptores NMDA desempenham um papel importante na plasticidade sináptica e formação de sinapse subjacente à memória, aprendizagem e formação de redes neurais durante o desenvolvimento no sistema nervoso central (SNC). A activação excessiva do receptor, causando um influxo excessivo de Ca<sup>2+</sup>, pode levar à excitotoxicidade, que implica o envolvimento em algumas perturbações neurodegenerativas. O bloqueio dos receptores de NMDA poderia, portanto, em teoria, ser útil no tratamento de tais doenças

[077] O receptor NMDA é um receptor de proteína de canal iónico que é activado quando a glicina e o glutamato se ligam a ele. O receptor é um complexo heteromérico que interage com múltiplas proteínas intracelulares por três subunidades diferentes: NR1, NR2 e NR3. A NR1 tem oito subunidades diferentes geradas por emendas alternativas a partir de um único gene. Existem quatro subunidades diferentes de NR2 (A-D), e as subunidades NR3A e NR3B foram reportadas. Seis genes separados codificam para NR2 e NR3. [Loftis J. M., Janowsky A. (2003). "A subunidade receptora N-metil-D-aspartate NR2B: localização, propriedades funcionais, regulação, e implicações clínicas". *Pharmacol Ther.* 97 (1): 55-85. doi:10.1016/s0163-7258(02)00302-9.].

[078] Agonistas ou moduladores alostéricos de receptores NMDA, em particular canais contendo subunidades NR2B, foram investigados como agentes terapêuticos para o tratamento de desordens depressivas graves (G. Sanacora, 2008, *Nature Rev. Drug Disc.* 7: 426-437). A subunidade NR2B tem estado envolvida em actividades moduladoras, tais como aprendizagem, memória, processamento e comportamentos de alimentação, bem como tem estado implicada em número de desordens humanas. A estrutura básica e as funções associadas ao receptor NMDA podem ser atribuídas à subunidade NR2B.

[079] No domínio N-terminal da NR2B foi também identificado um local de ligação alostérico e não competitivo. A subunidade NR2 actua como o local de ligação do glutamato, um dos receptores neurotransmissores excitatórios predominantes no cérebro dos mamíferos. [Yoshimura Y, Ohmura T, Komatsu Y (Julho de 2003). "Duas formas de plasticidade sináptica com dependência distinta da idade, experiência, e subtipo de receptor NMDA no córtex visual do rato". *The Journal of Neuroscience.* 23 (16): 6557–66. PMID 12878697].

[080] NR2B tem sido associado à plasticidade dependente da idade e da experiência visual no neocórtex de ratos, onde um aumento da relação NR2B/NR2A se correlaciona directamente com o LTP excitatório mais forte em animais jovens. Pensa-se que isto contribui para o refinamento, dependente da experiência, do desenvolvimento de circuitos corticais.

[081] O papel da subunidade NR2B do receptor NMDA tem sido demonstrado na acção de diferentes agentes antidepressivos. [Poleszak E, Wlaż P, Szewczyk B, Wlaż A, Kasperek R, Wróbel A, Nowak G (2011) Uma interacção complexa entre receptores de glicina/NMDA e antidepressivos serotoninérgicos/noradrenérgicos no teste de natação forçada em ratos. J Transmissão neural 118:1535-15 46].

[082] Os receptores acoplados à proteína G (GPCRs), também conhecidos receptores ligados à proteína G (GPLR), constituem uma grande família de receptores proteicos que detectam moléculas fora da célula e activam vias internas de transdução de sinal e, em última análise, respostas celulares.

[083] Os GPCRs no cérebro dos mamíferos ligam vários neurotransmissores diferentes, incluindo serotonina, dopamina, GABA, e glutamato. Os receptores de G acoplados à proteína estão envolvidos em muitas doenças e são também o alvo de aproximadamente 34% de todos os medicamentos modernos.

[084] Um aspecto da invenção inclui, que o Prolyl Glycine cíclico (cPG) e os seus análogos farmacologicamente activos actuam como agentes moduladores neuronais a fim de tratar a depressão e outros distúrbios psicológicos. Um mecanismo possível, embora expressamente não limitado a qualquer mecanismo, é a modulação dos níveis intracelulares de cAMP e/ou Ca<sup>2+</sup>. Aqui, o cPG demonstrou ser química e biologicamente capaz de aumentar o AMPc (por exemplo, aumentando a síntese ou diminuindo a decomposição) e/ou Ca<sup>2+</sup> (por exemplo, aumentando o influxo ou diminuindo o efluxo).

[085] Além disso, foi demonstrado que o Prolyl Glycine cíclico e os seus análogos farmacologicamente activos ligam selectivamente o domínio N-terminal de NR2B, o que pode sustentar uma resposta antidepressiva no ser humano.

[086] A presente invenção oferece vantagens técnicas do Prolyl Glycine cíclico ("cPG") e dos seus análogos farmacologicamente activos, juntos são conhecidos como compostos cPG, que são ligandos para o receptor NR2B e podem ser úteis para o tratamento de várias perturbações do sistema nervoso central. Além disso, os compostos de cPG oferecem vantagens para usos farmacêuticos, por exemplo, no que diz respeito a um ou mais dos

seus mecanismos de acção, ligação, eficácia de inibição, selectividade de alvo, solubilidade, perfis de segurança, ou biodisponibilidade.

[087] Ao executar o método da invenção, os pacientes deprimidos recebem a combinação de substâncias a níveis de dosagem farmacologicamente eficazes, utilizando vias de administração e regime apropriados. As substâncias podem ser administradas sob a forma de uma única unidade de dose na qual as substâncias activas são combinadas com um excipiente adequado; ou podem ser administradas em unidades de dose separadas nas quais as substâncias activas são individualmente combinadas com um excipiente adequado. Quando administrada separadamente, a administração pode ser simultânea ou a intervalos de tempo seleccionados.

[088] A administração é preferencialmente oral e o transportador ou transportadores são seleccionados tendo isto em mente. Embora este seja o caso, outros modos de administração de ambas substâncias, bem como modos mistos com os materiais individuais, são considerados parte da presente invenção.

[089] Os níveis de dosagem dos materiais variam em função do material específico utilizado e da gravidade do estado do paciente a ser tratado. O Prolyl Glycine cíclico (cPG) é utilizado em quantidades que variam de cerca de 0,1 mg a cerca de 10 mg por kg de peso corporal.

[090] Recomenda-se administrar oralmente com uma dose de cerca de 20 mg a cerca de 80 mg por dia e pode ser até cerca de 100 mg por dia para alguns casos graves por ordem de prescrição médica.

[091] As composições farmacêuticas da presente invenção são preparadas utilizando os ingredientes activos em associação com os portadores de fármacos convencionalmente utilizados com tais materiais. As composições da presente invenção são, em geral, contempladas para administração oral, a fim de se obter um efeito antidepressivo. Este pode ser em qualquer das formas de dosagem, tais como comprimidos, cápsulas, pós, suspensões, soluções, xaropes e similares, incluindo as preparações de libertação prolongada. O termo forma de dosagem tal como utilizado nesta especificação e as alegações referem-se a unidades fisicamente discretas a serem administradas em dose

única ou múltipla, cada unidade contendo uma quantidade pré-determinada de material activo em associação com o diluente, transportador ou veículo necessário. A quantidade de material activo é aquela calculada para produzir o efeito terapêutico desejado na administração de uma ou mais dessas unidades.

[092] Os pós são preparados misturando as substâncias activas com um recipiente de tamanho adequado e misturando com um diluente cominutivo semelhante, tal como um material de hidratos de carbono comestível, como por exemplo, o amido. Também podem estar presentes agentes adoçantes, aromatizantes, conservantes, dispersantes e corantes.

[093] As cápsulas são feitas preparando uma mistura em pó como descrito acima e enchendo bainhas de gelatina formadas. Um lubrificante como o talco, estearato de magnésio e estearato de cálcio pode ser adicionado à mistura em pó como adjuvante antes da operação de depósito; um agente deslizante como a sílica coloidal pode ser adicionado para melhorar as propriedades de escoamento; um agente desintegrador ou solubilizante pode ser adicionado para melhorar a disponibilidade do medicamento quando a cápsula é ingerida.

[094] As pastilhas são feitas preparando uma mistura em pó, granulando ou engolindo, adicionando um lubrificante e desintegrando e pressionando em pastilhas. Uma mistura em pó é preparada misturando a substância activa, devidamente cominutada, com um diluente ou base como amido, sacarose, caulino, fosfato dicálcico e similares. A mistura em pó pode ser granulada por humedecimento com um ligante, tal como xarope, pasta de amido, mucilagem de acácia ou soluções de materiais celulósicos ou poliméricos e forçando através de uma tela. Como alternativa à granulação, a mistura em pó pode ser conduzida através da máquina de comprimidos e as balas resultantes imperfeitamente formadas, quebradas em grânulos. Os grânulos podem ser lubrificados para evitar a aderência aos moldes formadores de pastilhas através da adição de ácido esteárico, um sal esteárico, talco ou óleo mineral. A mistura lubrificada é então comprimida em pastilhas.

[095] O medicamento também pode ser combinado com suportes inertes de fluxo livre e comprimido directamente em comprimidos, sem passar pelas etapas de granulação ou de

arrastamento. Pode ser fornecido um revestimento protector constituído por uma camada de selagem de shellac, um revestimento de açúcar ou material polimérico e um revestimento de polimento de cera. Podem ser adicionados corantes a estes revestimentos para distinguir diferentes dosagens unitárias.

[096] A formulação líquida oral, como xaropes e elixires, pode ser preparada em forma de dose unitária de modo a que uma dada quantidade, por exemplo, uma colher de chá, contenha uma quantidade pré-determinada do composto. Os xaropes podem ser preparados dissolvendo o composto numa solução aquosa de sacarose com sabor adequado enquanto os elixires são preparados através da utilização de um veículo alcoólico não tóxico. As suspensões podem ser formuladas através da dispersão do medicamento num veículo não tóxico no qual é insolúvel.

[097] Uma importante encarnação da presente invenção, particularmente para preparar formulações farmacêuticas sólidas, são os sais de adição de ácido não tóxico farmacologicamente aceitáveis dos fármacos activos. Tais sais não tóxicos farmacologicamente aceitáveis incluem aqueles derivados de ácidos orgânicos e inorgânicos tais como, sem limitação, hidrocloreto, hidrobrometo, sulfato, fosfato, metanossulfónico, acético, láctico, succínico, málico, maleico, acónico, ftálico, tartárico, embónico, enérgico e ácidos semelhantes.

[098] Enquanto a presente invenção contempla, principalmente, a administração oral, outros modos não estão certamente excluídos. As ampolas para aplicação parenteral podem ser preparadas e de preferência conter sais hidrossolúveis das substâncias activas e possíveis substâncias tampão em solução aquosa.

[099] Nas composições líquidas, quer concebidas para administração oral ou parenteral em que as substâncias activas são combinadas, deve ter-se o cuidado de assegurar a estabilidade dos materiais activos.

[100] Nos casos em que os materiais activos devem ser administrados separadamente, as composições individuais são preparadas da forma indicada acima. Estas composições individuais podem então ser administradas como tal ou combinadas numa unidade de dose

única, mantendo a identidade separada, como por exemplo num comprimido de várias camadas ou numa cápsula única contendo ambos os componentes numa pluralidade de partículas discretas.

### **BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS**

[101] Uma melhor compreensão da invenção será obtida a partir da referência aos seguintes exemplos e desenhos em que:

A figura 1 ilustra o caminho proposto para o metabolismo do cis-GPE para o Prolyl Glycine cíclico e o ácido glutâmico;

A figura 2 ilustra o mecanismo proposto através do qual o Prolyl Glycine cíclico pode actuar para ligar iões metálicos;

A figura 3 ilustra em forma gráfica a toxicidade do glutamato em microexplantes cerebelares (P4) e o efeito de resgate pelo GP cíclico;

A figura 4 ilustra em forma gráfica a prevenção da toxicidade do glutamato por GP cíclico monitorizado dentro das microexplantes cerebelares P4;

A figura 5 ilustra em forma gráfica os efeitos do cPG na recuperação funcional após lesão de 6-OHDA;

A figura 6 ilustra o tempo para chegar à plataforma. Modelo de Aprendizagem e Memória de Morris Water Maze (MWM) Utilizado para Avaliar os Efeitos do Prolyl Glycine cíclico sobre a Função Cognitiva;

Figura 7 Gráfico mostrando o impacto de BrdU + Células/300 micrómetro na zona sub ventricular para soluções de fármacos cPG, cGMeP e c(PG)3;

A figura 8 ilustra o impacto de BrdU + Células/300 micrómetro em giro dentado para cPG, c(PG)3 cGMeP e soluções de fármacos;

A figura 9 ilustra a melhoria na Capacidade de Concentração e Contagem;

A figura 10 ilustra a melhoria na Memória de Curto Prazo;

A figura 11 ilustra a melhoria na Memória de Longo Prazo;

A figura 12 ilustra o Impacto na Orientação;

A figura 13 ilustra a melhoria nas Actividades Diárias e no Autocuidado;

A Figura 14 ilustra o Impacto sobre a Emoção;

A Figura 15 ilustra o Impacto da Capacidade Cognitiva.

[102] A presente invenção é descrita com referência a encarnações específicas da mesma. Outros aspectos desta invenção podem ser apreciados com referência aos desenhos. Os desenhos foram fornecidos no texto acima e também os desenhos anexos, e são ainda fornecidos abaixo e os seus descrição fornecida nesse local.

### **DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO**

[103] Os exemplos seguintes são dados apenas a título de ilustração e não devem ser considerados como limitando o âmbito da invenção.

[104] Foi surpreendentemente descoberto que o processo do metabolismo de IGF1 no tripeptídeo GPE e des IGF é apenas uma parte do processo.

[105] O isômero cis do GPE pode ainda se decompor para formar uma Prolil Glicina cíclica e ácido glutâmico. Isso é mostrado na **Figura 1**.

[106] A estrutura cíclica do PG é suficientemente pequena para permitir que atravesse a barreira hematoencefálica.

[107] Além disso, conforme mostrado na **Figura 2**, a estrutura da molécula é tal que é capaz de fornecer ligantes para a ligação de íons metálicos, como  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  e semelhantes e, como tal, pode atuar como um quelante agente.

[108] O possível papel do cPG como um agente é ainda apoiado pelo produto de degradação que o acompanha, o ácido glutâmico.

[109] O ácido glutâmico é conhecido por estar associado a doenças cerebrais. (Johnston, GAR em Roberts PJ et al Editors, Glutamate: Transmitter in the Central Nervous System, John Wiley & Sons, 1981, pp.77-87).

[110] Tal como aqui utilizado, um composto de cPG é um composto com atividade biológica semelhante ou idêntica à atividade biológica de cPG; Os compostos de cPG compreendem cPG, análogos de cPG biologicamente ativos, miméticos de cPG biologicamente ativos e compostos que aumentam a concentração de cPG e análogos de cPG em um mamífero. Os

compostos de cPG incluem moléculas de cPG, tais como porções truncadas de compostos de IGF-I, bem como outros análogos e miméticos químicos e biológicos.

[111] Tal como aqui utilizado, "análogo de cPG" é qualquer análogo de cPG, análogo de cPG de ocorrência natural ou quaisquer variantes dos mesmos, que são capazes de se ligar efetivamente aos receptores mGluR no SNC e de promover um efeito neuroprotetor equivalente nas células nervosas do SNC. Exemplos de análogos de cPG são c (PG) 3 e Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica.

[112] O termo "moléculas de cPG" inclui fragmentos de peptídeos e porções truncadas de compostos de IGF-I mais longos, bem como outros análogos e miméticos químicos e biológicos. Os compostos de cPG podem ser usados no tratamento de mamíferos que sofrem de lesões ou doenças neutras. Em particular, os compostos de cPG podem ser usados para tratar pacientes humanos que sofrem de lesão ou doença neural. Ainda mais geralmente, as composições e métodos da invenção encontram uso no tratamento de mamíferos, tais como pacientes humanos, que sofrem de danos nos nervos ou potencial morte celular apoptótica e / ou necrótica, devido a lesões e doenças, como choque séptico, isquemia, administração de citocinas, superexpressão de citocinas, úlceras, gastrite, colite ulcerosa, doença de Crohn, diabetes, artrite reumatóide, asma, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose múltipla, acidente vascular cerebral, cirrose, rejeição de aloenxerto, rejeição de transplante, encefalomielite, meningite, pancreatite, peritonite, vasculite, coriomeningite linfocítica, glomerulonefrite, uveíte, glaucoma, blefarite, calázio, doença ocular alérgica, úlcera de córnea, queratite, catarata, distúrbios da retina, degeneração macular relacionada à idade, ileíte de neurite óptica, inflamação induzida por superprodução de citocinas inflamatórias, hemorragia choque, choque anafilático, queimadura, infecção levando à superprodução de citocinas inflamatórias induzidas por bactérias, vírus, fungos e parasitas, hemodiálise, síndrome da fadiga crônica, acidente vascular cerebral, câncer, doenças cardiovasculares associadas à superprodução de citocinas inflamatórias, doença cardíaca, circulação extracorpórea, lesão isquêmica / reperfusão, isquêmica / reperfusão associada à superprodução de citocinas inflamatórias,

síndrome do choque tóxico, síndrome do desconforto respiratório do adulto, caquexia, miocardite, doenças autoimunes, eczema, psoríase, insuficiência cardíaca, dermatite, urticária, isquemia cerebral, lúpus eritematoso sistêmico, AIDS, AIDS, demência, doença neurodegenerativa crônica, dor crônica, priapismo , fibrose cística, esclerose lateral amiotrófica, esquizofrenia, depressão, síndrome pré-menstrual , ansiedade, vício, enxaqueca, doença de Huntington, epilepsia, distúrbios da motilidade gastrointestinal, obesidade, hiperfagia, neuroblastoma, malária, cânceres hematológicos, mielofibrose, lesão pulmonar, enxerto-versus doença do hospedeiro, traumatismo craniano, trauma do SNC, hepatopatia tis, insuficiência renal, hepatite C crônica, envenenamento por paraquat, rejeição e preservação de transplante, aumento da fertilidade, translocação bacteriana, choque circulatório, choque traumático, hemodiálise, ressaca e combinações de dois ou mais destes.

[113] Além disso, cPG e seus análogos, tais como, mas não se limitando a c(PG)3 e cGMeP, podem ser usados para tratar mamíferos que sofrem de insulto à substância branca como resultado de lesão cerebral aguda, como lesão perinatal hipóxica-isquêmica; ou de lesão neural crônica ou doença neurodegenerativa, como esclerose múltipla, ou de outras doenças desmielinizantes e distúrbios incluindo envolvimento inflamatório, como encefalomielite disseminada aguda, neurite óptica, mielite transversa, doença de Devic, as leucodistrofias; envolvimento não inflamatório; leucoencefalopatia multifocal progressiva, mielinólise pontina central. Os pacientes que sofrem de tais doenças ou lesões se beneficiarão muito com um protocolo de tratamento capaz de iniciar a remielinização.

[114] A presente invenção tem aplicação na indução da produção de mielina após insulto sob a forma de trauma, exposição a toxinas, asfixia ou hipoxia-isquemia, e tem aplicação no tratamento ou prevenção da apoptose em resposta a lesões ou doenças sob a forma de cânceres, infecções virais, doenças auto-imunes, doenças e lesões neurológicas e doenças cardiovasculares.

[115] O tratamento com cPG ou seus análogos, incluindo mas não limitado a c(PG)3 e cGAL pode ser dado antes (bem como alterar) uma lesão - como por exemplo antes da cirurgia

electiva. Exemplos de procedimentos eletivos relevantes incluem a cirurgia neural, na qual a retracção dos lobos do cérebro pode levar a edema cerebral, ou operações cardíacas, tais como substituição de válvulas, na qual se diz que pequenos embolias inevitáveis levam a um comprometimento detectável da função cerebral em cerca de 75% dos casos.

#### Farmacologia e Utilidade

[116] cPG pode agir como um anti-necrótico e anti-apoptótico num processo de morte celular. A sua actividade anti-apoptótica e anti-necrótica in vivo pode ser medida por contagem de células. cPG também pode ser medido in vitro. (Gudasheva T.A. et al. FEBS Letters, Vol. 391, Issues 1-2, 5 August 1996, pp. 149-152). Os danos do SNC podem, por exemplo, ser medidos clinicamente pelo grau de défice neurológico permanente da função cognitiva, e/ou propensão para perturbações convulsivas. (Rakic L.J et al, in Rakic L.J et al Peptide and Amino Acid Transport Mechanisms in The Central Nervous System, 1988, The MacMillan Press Ltd. (Londres) pp.167-181).

#### Composição e administração farmacêutica

[117] O próprio cPG como parte da presente invenção pode ser utilizado para prevenir ou tratar danos celulares e a morte programada e a indução da produção de mielina.

[118] Normalmente, isto é efectuado através da administração directa de cGP ao doente. Se desejar, uma combinação dos compostos de cPG e dos seus análogos pode ser administrada numa composição farmacêuticamente aceitável.

[119] Os especialistas na arte compreenderão que não há intenção por parte dos requerentes de excluir a administração de outras formas de cPG e dos seus análogos. A título de exemplo, a quantidade efectiva de cPG no SNC pode ser aumentada pela administração de um pró-fármaco de cPG, que inclui cPG e um portador, sendo o cPG e o portador unidos por uma ligação susceptível de clivagem ou digestão dentro do paciente.

[120] Qualquer ligação adequada pode ser empregue que será clivada ou digerida para libertar o cPG após a administração.

[121] Além disso, está previsto que os níveis de cPG possam ser aumentados através de um implante que inclua uma linha celular capaz de expressar cPG num activo a partir do SNC do paciente.

[122] Também podem ser administrados pró-fármacos de cPG e seus análogos. Nesse caso, o pró-fármaco é metabolizado ou de outra forma alterado dentro do sujeito para formar cPG.

cPG e os seus análogos, tais como, mas não limitados a c(PG)<sub>3</sub> e Glycyl-2-Allyl Proline cíclico, ou Glycyl-Alkyl Proline cíclico ou Glycyl-2-Methyl-Proline pode ser administrado como parte de um medicamento ou preparação farmacêutica. Isto pode envolver a combinação de cPG com qualquer excipiente, adjuvante ou excipiente farmacêuticamente apropriado. A selecção do excipiente, adjuvante ou excipiente dependerá, naturalmente, da via de administração a utilizar.

[123] A via de administração pode variar muito e ser qualquer via de administração apropriada. Uma vantagem do cPG é que pode ser administrado de forma periférica. Isto significa que não precisa de ser administrado directamente ao SNC do paciente para ter efeito no SNC.

[124] Qualquer via periférica conhecida na arte pode ser empregada. Estas podem incluir, mas não estão limitadas a vias parenterais, por exemplo, injeção na circulação periférica, subcutânea, intraorbital, oftalmológica, intracapsular, intracisternal, tópica, infusão (usando, por exemplo, dispositivos de libertação controlada ou minipumps, tais como bombas osmóticas ou manchas cutâneas), implante, aerossol, inalação, escarificação, intraperitoneal, intracapsular, intramuscular, intranasal, oral, bucal, pulmonar, rectal ou vaginal. As composições podem ser formuladas para administração parentérica a humanos ou outros mamíferos em quantidades terapêuticas eficazes (por exemplo, quantidades que eliminam ou reduzem o estado patológico do paciente) para proporcionar terapia para as doenças neurológicas descritas acima.

[125] Duas das vias de administração preferidas serão por injeção subcutânea (tais como, mas não limitadas a, dissolvidas em cloreto de sódio a 0,9%) ou oralmente (numa cápsula).

[126] Também será apreciado que, por vezes, poderá ser desejável administrar directamente compostos de cPG ao SNC do paciente. Mais uma vez, isto pode ser conseguido por qualquer via de administração directa apropriada. Os exemplos incluem a administração por injeção cerebroventricular lateral ou através de um shunt cirurgicamente inserido no cerebroventricle lateral do cérebro do paciente.

[127] O cálculo da quantidade efectiva de compostos de cPG a administrar está dentro da perícia de uma perícia comum na arte, e será rotina para as pessoas com perícia na arte.

[128] Escusado será dizer que a quantidade final a ser administrada dependerá da via de administração e da natureza da desordem ou condição neurológica a ser tratada. De preferência, o composto de cPG será administrado entre cerca de 1 µg a 100 mg de composto de cPG por quilograma de peso corporal onde a dose é administrada de forma centralizada.

[129] Uma dose adequada para a administração de cPG pode ser, por exemplo, entre cerca de 0,1 mg a cerca de 10 mg por quilograma de peso corporal, ou entre cerca de 1 mg a cerca de 5 mg por quilograma de peso corporal.

[130] Para inclusão num medicamento, os compostos de cPG podem ser obtidos a partir de uma fonte comercial adequada, como a Bachem AG de Bubendorf, Suíça. Alternativamente, o cPG pode ser directamente sintetizado por métodos convencionais, tais como o método de síntese de fase sólida por etapas de Merrifield et al. 1963 J. Amer. Chem. Soc.: 85, 2149-2156. Alternativamente, a síntese pode envolver a utilização de sintetizadores de peptídeos disponíveis comercialmente, tais como o modelo 430A da Applied Biosystems.

[131] O cGAL pode ser preparado por métodos tais como os que são bem conhecidos dos de habilidade comum na arte da síntese de peptídeos e análogos. Exemplo: "Principles of Peptide Synthesis" de Bodanzsky, publicado por Springer-Verlag 1993.

[132] c(PG)<sub>3</sub> pode ser preparado pelo método publicado no Israel Journal of Chemistry, Vol. 12, Nos. 1-2, 1974, pp. 15-29 "CYCLIC Peptides VII: The Synthesis and Characterization of Cyclic Peptides with Repeating Pro-Gly Sequences- por Charles M. Deber e Elkan R. Blout.pu.

[133] Como proposta geral, a quantidade total farmacologicamente eficaz do composto cPG administrado parenteralmente por dose estará num intervalo que pode ser medido por uma curva de resposta de dose. Pode-se administrar quantidades crescentes do composto de cPG ao paciente e verificar os níveis séricos do paciente para cPG. A quantidade de composto de cPG a ser empregada pode ser calculada numa base molar, com base nestes níveis séricos de cPG.

[134] Especificamente, um método para determinar a dosagem apropriada do composto implica a medição dos níveis de cPG num fluido biológico, como um fluido corporal ou sanguíneo. A medição de tais níveis pode ser feita por qualquer meio, incluindo RIA e ELISA. Após a medição dos níveis de cPG, o fluido é contactado com o composto utilizando doses únicas ou múltiplas. Após esta etapa de contacto, os níveis de cPG são medidos de novo no fluido. Se os níveis de cPG do fluido tiverem caído numa quantidade suficiente para produzir a eficácia desejada para a qual a molécula deve ser administrada, então a dose da molécula pode ser ajustada para produzir a eficácia máxima. Este método pode ser realizado in vitro ou in vivo. De preferência, este método é realizado in vivo, ou seja, após o fluido ser extraído de um mamífero e os níveis de cPG medidos, o composto é administrado ao mamífero usando doses únicas ou múltiplas (ou seja, a etapa de contacto é alcançada através da administração a um mamífero) e depois os níveis de cPG são novamente medidos a partir do fluido extraído do mamífero.

[135] O composto também pode ser adequadamente administrado através de um sistema de libertação prolongada. Exemplos adequados de composições de libertação sustentada incluem matrizes semipermeáveis de polímeros sob a forma de artigos moldados, por exemplo, filmes, ou microcápsulas. As matrizes de libertação sustentada incluem polilactídeos (Pat. U.S. No. 3,773,919; EP 58,481), copolímeros de ácido L-glutâmico e gama-etil-L-glutamato (Sidman et al., 1983), poli(2-hidroxietilmetacrilato) (Langer et al., 1981), acetato de etileno vinil (Langer et al., supra), ou ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico (EP 133,988). As composições de libertação prolongada também incluem um composto lipossomicamente aprisionado. Os lipossomas que contêm o composto são preparados por

métodos conhecidos per se: DE Patente 3,218,121; Epstein et al., 1985; Hwang et al., 1980; Patente EP 52,322; Patente EP 36,676; Patente EP 88,046; Patente EP 143,949; Patente EP 142,641; Patente Japonesa. Aplica. 83-118008; Pat. dos E.U.A. Nos. 4,485,045 e 4,544,545; e EP 102,324. Normalmente, os lipossomas são do tipo unilamelar pequeno (de ou cerca de 200 a 800 Angstroms) em que o conteúdo lipídico é superior a cerca de 30 mol. por cento de colesterol, sendo a proporção seleccionada ajustada para a terapia mais eficaz. [136] Os peptídeos PEGuilados com uma vida mais longa também podem ser empregados, com base, por exemplo, na tecnologia de conjugado descrita em WO 95/32003, publicado em 30 de novembro de 1995.

[137] Se for preferível a administração parenteral, o composto é formulado geralmente misturando cada um na concentração desejada, numa forma unitária injectável (solução, suspensão, ou emulsão), com um excipiente farmacêutico, ou parenteral, aceitável, ou seja, não tóxico para os receptores nas doses e concentrações utilizadas e compatível com outros ingredientes da formulação.

[138] Geralmente, as formulações são preparadas contactando o composto com portadores líquidos ou portadores sólidos finamente divididos ou ambos. Depois, se necessário, o produto é moldado na formulação desejada. De preferência, o portador é um portador parenteral, mais preferencialmente uma solução isotónica com o sangue do receptor.

[139] Exemplos de tais veículos de transporte incluem água, soro fisiológico, solução de Ringer, uma solução tamponada, e solução de dextrose. Também podem ser utilizados veículos não aquosos, tais como óleos fixos e oleato de etilo.

[140] O transportador pode ainda conter aditivos tais como substâncias que melhoram a isotonicidade e a estabilidade química. Tais materiais são não tóxicos para recipientes nas dosagens e concentrações utilizadas, e incluem tampões tais como fosfato, citrato, succinato, ácido acético, e outros ácidos orgânicos ou seus sais; antioxidantes tais como ácido ascórbico; polipéptidos de baixo peso molecular (menos de cerca de dez resíduos), por exemplo poliarginina ou tripeptídeos; proteínas, tais como albumina sérica, gelatina, ou imunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tais como polivinilpirrolidona; glicina; aminoácidos

tais como ácido glutâmico, ácido aspártico, histidina, ou arginina; monossacarídeos, dissacarídeos e outros carboidratos, incluindo celulose ou seus derivados, glucose, manose, trealose, ou dextrina; agentes quelantes como EDTA; álcoois açucarados como manitol ou sorbitol; contra-íons como sódio; tensioactivos não-iónicos como polissorbato, poloxameres, ou polietilenoglicol (PEG); e/ou sais neutros, e. g., NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub> CaCl<sub>2</sub>, etc.

[141] O composto cPG é tipicamente formulado em tais veículos a um pH entre cerca de 5,5 a cerca de 8,0. Os adjuvantes típicos que podem ser incorporados em comprimidos, cápsulas, e similares são um ligante como a acácia, amido de milho, ou gelatina; um excipiente como a celulose microcristalina; um agente desintegrador como o amido de milho ou ácido algínico; um lubrificante como o estearato de magnésio; um agente adoçante como a sacarose ou lactose; um agente aromatizante como a hortelã-pimenta, verde de inverno, ou cereja. Quando a forma de dosagem é uma cápsula, para além dos materiais acima referidos, pode também conter um excipiente líquido, tal como um óleo gordo. Outros materiais de vários tipos podem ser utilizados como revestimentos ou como modificadores da forma física da unidade de doseamento. Um xarope ou elixir pode conter o composto activo, um adoçante como a sacarose, conservantes como o propil parabeno, um corante, e um aromatizante como a cereja. As composições estéreis para injeção podem ser formuladas de acordo com a prática farmacêutica convencional. Por exemplo, a dissolução ou suspensão do composto activo num veículo como a água ou óleo vegetal natural como o sésamo, amendoim, ou óleo de algodão ou um veículo gordo sintético como o oleato de etilo ou similares podem ser desejados. Tampões, conservantes, antioxidantes, e similares podem ser incorporados de acordo com a prática farmacêutica aceite.

[142] O composto a ser utilizado para a administração terapêutica deve ser estéril. A esterilidade é prontamente obtida por filtração através de membranas de filtração estéreis (por exemplo, membranas de 0,2 microns). As composições terapêuticas são geralmente colocadas num recipiente com uma porta de acesso estéril, por exemplo, um saco ou frasco de solução intravenosa com uma rolha perfurada por uma agulha de injeção hipodérmica.

[143] O composto será normalmente armazenado em recipientes unitários ou multi-doses, por exemplo, ampolas ou frascos de vidro selados, como solução aquosa ou como formulação liofilizada para reconstituição. Como exemplo de uma formulação liofilizada, as ampolas de 10-mL são enchidas com 5 ml de solução aquosa esterilizada 1% (p/v) de composto, e a mistura resultante é liofilizada. A solução de infusão é preparada reconstituindo o composto liofilizado utilizando água bacteriostática para injeção.

[144] A terapia de combinação com o composto cPG aqui presente e um ou mais reagentes apropriados que aumentam o cPG total no sangue ou aumentam o efeito do cPG é também contemplada. Estes reagentes permitem geralmente que o composto de cPG aqui presente liberte o cPG gerado.

[145] Além disso, um aspecto da presente invenção inclui a utilização de terapia genética para tratar um mamífero, utilizando ácido nucleico que codifica o composto de cPG, se este for um peptídeo. Geralmente, a terapia genética é utilizada para aumentar (ou sobreexpressar) os níveis de cPG no mamífero. Os ácidos nucleicos, que codificam o peptídeo de cPG, podem ser utilizados para este fim. Uma vez conhecida a sequência de aminoácidos, é possível gerar várias moléculas de ácido nucleico utilizando a degenerescência do código genético, e seleccionar quais utilizar para a terapia genética.

[146] Existem duas abordagens principais para obter o ácido nucleico (opcionalmente contido num vector) nas células do paciente para fins de terapia genética: in vivo e ex vivo.

[147] Para a entrega in vivo, o ácido nucleico é injectado directamente no paciente, geralmente no local onde o composto cPG é necessário. Para tratamento ex vivo, as células do doente são removidas, o ácido nucleico é introduzido nestas células isoladas, e as células modificadas são administradas ao doente quer directamente, quer, por exemplo, encapsuladas dentro de membranas porosas que são implantadas no doente. Ver, por exemplo, U.S. Pat. Nos. 4,892,538 e 5,283,187.

[148] Há uma variedade de técnicas disponíveis para a introdução de ácidos nucleicos em células viáveis. As técnicas variam dependendo se o ácido nucleico é transferido para células cultivadas in vitro, ou in vivo nas células do hospedeiro pretendido. As técnicas

adequadas para a transferência de ácido nucleico para células de mamíferos in vitro incluem a utilização de lipossomas, electroporação, microinjecção, fusão celular, DEAE-dextran, o método de precipitação de fosfato de cálcio, etc. Um vector vulgarmente utilizado para a entrega ex vivo do gene é um retrovírus.

[149] As técnicas actualmente preferidas de transferência de ácido nucleico in vivo incluem a transferência com vectores virais (tais como adenovírus, vírus Herpes simplex I, ou vírus adeno-associado) e sistemas baseados em lipídios (os lipídios úteis para a transferência mediada por lipídios do gene são DOTMA, DOPE e DC-Chol, por exemplo). Em algumas situações é desejável fornecer à fonte de ácido nucleico um agente que visa as células alvo, tal como um anticorpo específico para uma proteína da membrana da superfície celular ou a célula alvo, um ligando para um receptor na célula alvo, etc. Quando são utilizados lipossomas, as proteínas que se ligam a uma proteína da membrana superficial da célula associada à endocitose podem ser utilizadas para a focalização e/ou para facilitar a absorção, por exemplo, proteínas capsidiais ou seus fragmentos trópicos para um determinado tipo de célula, anticorpos para proteínas que sofrem internalização no ciclo, e proteínas que visam a localização intracelular e aumentam a meia-vida intracelular. A técnica da endocitose mediada por receptores é descrita, por exemplo, por Wu et al., 1987; Wagner et al., 1990). Para revisão dos protocolos de marcação genética e terapia genética actualmente conhecidos, ver Anderson 1992. Ver também WO 93/25673 e as referências aí citadas.

[150] Os kits são também contemplados para esta invenção. Um kit típico incluiria um recipiente, de preferência um frasco, para a formulação do composto de cPG, compreendendo o composto de cPG num tampão farmacologicamente aceitável e instruções, tais como a inserção de um produto ou rótulo, orientando o utilizador a utilizar a formulação farmacêutica.

[151] Alguns aspectos da presente invenção incluem a utilização do cPG no tratamento do défice cognitivo associado ao envelhecimento com condições neurodegenerativas ou em situações em que o défice cognitivo é encontrado sem neurodegeneração aparente.

[152] Tais outros agentes podem ser seleccionados a partir do grupo não limitador de, por exemplo, factores de crescimento e derivados associados, por exemplo, factor de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I), factor de crescimento semelhante à insulina-II (IGF-II), hormona de crescimento, factor de crescimento nervoso, proteína de ligação à hormona de crescimento, e/ou proteínas de ligação à IGF.

#### Aplicações Terapêuticas

[153] As composições e métodos da presente invenção são utilizados no tratamento de animais, tais como pacientes humanos, que sofrem de deficiências cognitivas. Ainda mais geralmente, as composições e métodos da presente invenção encontram utilização no tratamento de mamíferos, tais como pacientes e sujeitos humanos, mas não limitados, que sofrem de perturbações da memória, de perturbações cognitivas ligeiras, demência, incluindo demências resultantes da atrofia cerebral associada à doença de Alzheimer, doença de Lewy-bodies, degeneração lobar frontotemporal, demência vascular, traumatismo craniano; doença de Huntington, doença de Parkinson, ou síndrome de Down.

#### Composição e Administração Farmacêutica

[154] Os compostos cíclicos de PG podem ser administrados como parte de um medicamento ou preparação farmacêutica. Isto pode envolver a combinação de um composto da invenção com qualquer excipiente, adjuvante ou excipiente farmacêuticamente apropriado. A selecção do excipiente, adjuvante ou excipiente dependerá, naturalmente, da via de administração a ser utilizada.

[155] Em geral, os compostos da presente invenção serão administrados em quantidades terapêuticamente eficazes por qualquer um dos modos habituais conhecidos na arte, quer individualmente quer em combinação com outros agentes terapêuticos convencionais para a doença a ser tratada. Uma quantidade terapêutica eficaz pode variar dependendo da doença ou lesão, da sua gravidade, da idade e saúde relativa do animal a ser tratado, da potência do(s) composto(s), e de outros factores. As quantidades terapêuticas eficazes de Prolyl Glycine cíclico podem variar de 0,01 a 10 miligramas por quilograma de massa do animal, sendo as doses mais baixas como 0,01 a 0,1 mg/kg apropriadas para administração

através do líquido cefalorraquidiano, como por administração intracerebroventricular, e as doses mais altas como 0,1 a 10 mg/kg apropriadas para administração por métodos como a administração oral, sistémica (por exemplo transdérmica), ou parenteral (por exemplo intravenosa). Uma pessoa de habilidade comum na arte será capaz, sem experimentação indevida, tendo em conta essa habilidade e essa revelação, de determinar uma quantidade terapêutica eficaz de um composto desta invenção para uma dada doença ou lesão.

[156] O Prolyl Glycine cíclico e o composto de cPG podem ser administrados oralmente ou periféricamente através de qualquer via periférica conhecida na arte. Estas podem incluir, mas não estão limitadas a vias parenterais, por exemplo, injeção na circulação periférica, subcutânea, intraorbital, oftálmica, intracisternal, tópica, intravenosa, aerossol, inalação, escarificação, intraperitoneal, intracapsular, intramuscular, intranasal, bucal, transdérmica, pulmonar, rectal ou vaginal.

[157] Para conveniência dos pacientes, os compostos cíclicos de Prolyl Glycine e cPG podem ser administrados por via oral. A quantidade de um composto desta invenção na composição pode variar muito dependendo do tipo de composição, tamanho de uma dose unitária, tipo de excipientes, e outros factores bem conhecidos dos de habilidade comum na arte. Em geral, a composição final pode incluir de 5 mg a 50 mg de cPG para um adulto típico de 50 a 120 kg ou  $1 \times 10^{-5}$  por cento a  $3 \times 10^{-4}$  por peso (% w), sendo o restante o excipiente ou excipientes.

[158] Outras vias de administração convenientes incluem injeção subcutânea ou infusão intravenosa (por exemplo, o cPG activo é dissolvido num excipiente fisiologicamente compatível, como 0,9% de cloreto de sódio ou dextrose) ou administração directa ao SNC.

[159] Usando dispositivos estereotáxicos e mapas precisos do SNC de um animal, um composto pode ser injectado directamente num local de danos neurais.

[160] A quantidade efectiva de composto no SNC pode ser aumentada através da administração de uma forma pró-droga de um composto, que compreende um composto da invenção e um transportador, em que o transportador é ligado a um composto da invenção por uma ligação susceptível de clivagem ou digestão no interior do paciente.

[161] Qualquer ligação adequada pode ser empregue que será clivada ou digerida após a administração.

[162] No entanto, não há intenção por parte dos requerentes de excluir outras formas de administração.

[163] Em outras encarnações da presente invenção, o restabelecimento da função nervosa num animal pode incluir a administração de uma quantidade terapêutica de Prolyl Glycine cíclico ou compostos de cPG em combinação com outro agente neuroprotector, seleccionado, por exemplo, factores de crescimento e derivados associados (factor de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I), factor de crescimento semelhante à insulina-II (IGF-II), factor de crescimento transformador- $\beta$ 1, activina, hormona de crescimento, factor de crescimento nervoso, proteína de ligação à hormona de crescimento, proteínas de ligação à IGF, factor de crescimento de queratinócitos, factor de crescimento induzido pelo androgénio. Outros membros da família FGF incluem, por exemplo, o factor de crescimento homólogo do factor de crescimento fibroblasto-1 (FHF-1), FHF-2, FHF-3 e FHF-4, factor de crescimento dos karatinócitos 2, factor de crescimento derivado do cérebro, neurotrofina 3, e neurotrofina 4. Outras formas de agentes terapêuticos neuroprotectores incluem clometiazol, ácido cinurénico, Semax, tacrolimus; glutamato agonista como, NPS1506, GV1505260, MK-801, GV150526; formigas AMPA como 2,3-dihidroxi-6-nitro-7-sulfamoylbenzo(f)quinoxalina (NBQX); agentes anti-inflamatórios dirigidos contra o endereço em MAdCAM-1 e/ou os seus receptores integrantes  $\alpha$ 4 ( $\alpha$ 4 $\beta$ 1 e  $\alpha$ 4 $\beta$ 7), tais como anti-MAdCAM-1mAb MECA-367 (n.º de adesão ATCC. HB-9478).

[164] Os compostos de Prolyl Glycine cíclicos podem ser convenientemente administrados por um sistema de libertação sustentada. Exemplos adequados de composições de libertação prolongada incluem matrizes semipermeáveis de polímeros sob a forma de artigos moldados, por exemplo, filmes, ou microcápsulas.

[165] Para a administração parenteral, numa incorporação, os compostos de Prolyl Glycine ou cPG são formulados geralmente misturando cada um no grau de pureza desejado, numa forma unitária injectável (solução, suspensão ou emulsão), com um excipiente farmacêutico,

ou parenteral, aceitável, por exemplo, não tóxico para os receptores nas dosagens e concentrações utilizadas e compatível com outros ingredientes da formulação.

[166] Geralmente, as formulações são preparadas contactando os compostos cíclicos de Prolyl Glycine ou cPG de forma uniforme e íntima com portadores líquidos ou portadores sólidos finamente divididos ou ambos. Depois, se necessário, o produto é moldado na formulação desejada. De preferência, o portador é um portador parenteral, ou de preferência uma solução isotónica com o sangue do receptor. Exemplos de tais veículos de transporte incluem água, solução salina, solução de Ringer, uma solução tamponada, e solução de dextrose. Os veículos não aquosos, tais como óleos fixos e oleato de etilo são também úteis aqui.

[167] Os compostos de Prolyl Glycine cíclico ou cPG são tipicamente formulados em tais veículos a um pH de ou cerca de 4,5 a 8. Entender-se-á que a utilização de alguns dos excipientes, portadores, ou estabilizadores acima mencionados resultará na formação de sais do composto. A preparação final pode ser um líquido estável ou sólido liofilizado.

[168] As formulações de Prolyl Glycine cíclico ou compostos de cPG em composições farmacêuticas podem também incluir adjuvantes. Os adjuvantes típicos que podem ser incorporados em comprimidos, cápsulas e similares são um ligante como a acácia, amido de milho, ou gelatina; um excipiente como a celulose microcristalina; um agente desintegrador como o amido de milho ou ácido algínico; um lubrificante como o estearato de magnésio; um agente adoçante como a sacarose ou lactose; um agente aromatizante como a hortelã-pimenta, verde de inverno, ou cereja. Quando as formas de dosagem são comprimidos, o Prolyl Glycine cíclico ou um composto e composições de cPG podem incluir ligantes e, opcionalmente, um revestimento liso. Quando a forma de dosagem é uma cápsula, para além dos materiais acima referidos, pode também conter um excipiente líquido, tal como um óleo gordo. Outros materiais de vários tipos podem ser utilizados como revestimentos ou como modificadores da forma física da unidade de dosagem. Um xarope ou elixir pode conter o composto activo, um edulcorante como a sacarose, conservantes como o propil parabeno, um corante, e um aromatizante como a cereja. As composições

estéreis para injeção podem ser formuladas de acordo com a prática farmacêutica convencional. Por exemplo, a dissolução ou suspensão do composto activo num veículo como a água ou óleo vegetal natural como o sésamo, amendoim, ou óleo de algodão ou um veículo gordo sintético como o oleato de etilo ou semelhante pode ser desejado.

[169] Para injeção, administração intraventricular e outras vias de administração invasivas, os compostos cíclicos de Prolyl Glycine ou cPG são de preferência estéreis. A esterilidade pode ser realizada por qualquer método conhecido na arte, por exemplo a filtração através de membranas de filtração estéreis (por exemplo, membranas de 0,2 micron). As composições terapêuticas são geralmente colocadas num recipiente com uma porta de acesso estéril, por exemplo, um saco ou frasco de solução intravenosa com uma rolha capaz de ser perfurada por uma agulha de injeção hipodérmica.

#### **Aspectos preferidos da Invenção Presente**

[170] Um primeiro aspecto da presente invenção inclui um método de regeneração de neurónios e perda de células glia como resultado de um insulto de lesão ou doença, incluindo as etapas de: a) fornecer um sujeito que necessita dos referidos neurónios regeneradores e perda de células glia; e b) administrar ao sujeito Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou aos seus análogos (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente denominado composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, numa quantidade eficaz para regenerar novos neurónios e glia; em que os neurónios são regenerados e a perda de células glia é regenerada no referido sujeito; e ainda em que o composto cPG serve como agente de neurogénese no sistema nervoso central; e ainda em que os neurónios e a perda de células glia como resultado de um insulto de lesão ou doença são regenerados.

[171] A regeneração dos neurónios refere-se geralmente ao recrescimento ou reparação de neurónios, glia, axónios, mielina, ou sinapses. Os investigadores estão a desenvolver novas ferramentas para controlar eficazmente o processo de lesão e degeneração neural e para criar um microambiente que aumenta a capacidade de reparação inata e a eficácia de outras estratégias de regeneração, incluindo a substituição de células neurais e a reabilitação

neuronal. As experiências 7 e 8 descrevem o método de regeneração de neurónios e perda de células glia como resultado de um insulto de lesão ou doença

[172] Outro aspecto da presente invenção inclui a administração sob a forma de uma composição farmacêutica, incluindo um excipiente farmacêuticamente aceitável.

[173] Um outro aspecto da presente invenção inclui o facto de a quantidade efectiva de composto de cPG ser de cerca de 1µg a cerca de 100 mg por kg de peso corporal.

[174] Um aspecto adicional da presente invenção inclui a administração em combinação com líquido cefalorraquidiano artificial.

[175] Outro aspecto da presente invenção inclui a administração intravenosa.

[176] Um outro aspecto da presente invenção inclui a combinação da administração com um agente neuroprotector, factor de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I) ou factor de crescimento semelhante à insulina-II (IGF-II).

[177] Um aspecto adicional da presente invenção em que a administração é combinada com um agente anti-inflamatório, reagentes alfa 4 subunidade anti-integrina.

[178] Um segundo aspecto da presente invenção inclui um método de reparação de neurónios danificados e perda de células glia como resultado de um insulto de lesão ou doença, incluindo a etapa de: a) fornecer um sujeito que necessita dos referidos neurónios regeneradores e perda de células glia; e b) administrar ao sujeito Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, numa quantidade eficaz para regenerar novos neurónios e glia; em que os neurónios são regenerados e a perda de células glia é regenerada no referido sujeito; em que a cPG serve como agente neurorescente no sistema nervoso central e em que os neurónios danificados e a perda de células glia como resultado de um insulto de lesão ou doença são reparados.

[179] A reparação dos neurónios danificados refere-se geralmente a técnicas ou processos reconstrutivos para reparar os neurónios danificados, a fim de evitar a perda neuronal e glial. A presente invenção descreve métodos que podem reparar neurónios e glia

danificados após efeitos traumáticos, anóxicos, infecciosos, e imunológicos adversos. A velha doutrina de que os axónios não podem ser feitos para regenerar, e os neurónios mortos não podem ser substituídos, já não é defensável. Em particular, a Experiência 7 e a Experiência 8 descrevem o processo de reparação através de intervenções neuronais, glial, e farmacológicas.

[180] Outro aspecto da presente invenção inclui onde no ciclo Prolyl Glycine (cPG) ou os seus análogos (ciclo(tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, é de cerca de 1µg a cerca de 100 mg por kg de peso corporal.

[181] Um outro aspecto da presente invenção inclui a administração sob a forma de uma composição farmacêutica, incluindo o seu excipiente farmacêuticamente aceitável.

[182] Um aspecto adicional da presente invenção inclui a administração em combinação com líquido cefalorraquidiano artificial.

[183] Outro aspecto da presente invenção inclui a combinação da administração com um agente neuroprotector, factor de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I) ou factor de crescimento semelhante à insulina-II (IGF-II).

[184] Um outro aspecto da presente invenção inclui aqui a administração combinada com um agente anti-inflamatório.

[185] Um terceiro aspecto da presente invenção inclui um método para aliviar ou aliviar a deficiência cognitiva causada por uma doença, lesão, ou condição num mamífero que dela necessite, compreendendo: a) o fornecimento a um mamífero que necessite de aliviar ou aliviar o défice cognitivo causado por uma doença, lesão ou condição; e b) a administração de uma quantidade farmacêuticamente eficaz de Prolyl Glycine cíclica (cPG) ou dos seus análogos (ciclo(tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente denominado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, a esse mamífero; em que a doença é seleccionada do grupo constituído pela doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy

Body, demência, e demência multi-infarto, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical; além disso, onde a lesão é seleccionada do grupo que consiste em lesão neurotóxica, hipoxia/isquémia cerebral, lesão cerebral traumática, cirurgia de bypass da artéria coronária, onde a referida condição é o envelhecimento normal, perda de memória relacionada com a idade, perda de memória, hipofunção colinérgica, estreitamento ou bloqueio vascular no cérebro, neuroinflamação, ligeiro comprometimento cognitivo, atrofia cerebral, degeneração frontotemporal dos lóbulos, doença de Pick, infecção por HIV, síndrome de Down, e perda de plasticidade sináptica; além disso, o referido mamífero destina-se a aliviar ou atenuar o déficit cognitivo causado por uma doença, lesão ou condição, incluindo a doença de Alzheimer, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[186] O alívio do déficit cognitivo refere-se geralmente a métodos que podem aliviar os sintomas relacionados com a memória, pensamento, linguagem e outros processos de pensamento. Além disso, podem também ajudar com o humor, agitação e outras questões comportamentais.

[187] Outro aspecto da presente invenção inclui onde o referido Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou os seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação destes, inclui uma solução aquosa e um ou mais excipientes, aditivos, portadores ou adjuvantes farmacologicamente aceitáveis.

[188] Um outro aspecto da presente invenção inclui onde o referido Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou os seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline, ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente designado por um composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, inclui ainda um ou mais excipientes, portadores, aditivos, adjuvantes ou aglutinantes numa pastilha ou cápsula.

[189] Um aspecto adicional da presente invenção inclui a doença em que o distúrbio é uma deficiência cognitiva ligeira, doença de Alzheimer, perda de memória, sintomas de défice de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-seniana, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[190] Outro aspecto da presente invenção inclui onde o ciclo Prolyl Glycine (cPG) ou os seus análogos (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, é administrado através de um oral, intraperitoneal, intravascular, circulação periférica, subcutânea, intraorbital, oftálmica, intra-espinhal, intracisternal, tópica, infusão, implante, aerossol, inalação, escarificação, intracapsular, intramuscular, intranasal, bucal, transdérmica, pulmonar, rectal, vaginal, ou uma combinação destes, via de administração.

[191] Outro aspecto da presente invenção inclui onde a quantidade farmacologicamente eficaz tem um limite inferior de cerca de 0,001 miligramas por quilograma de massa (mg/kg) do referido mamífero e um limite superior de cerca de 100 mg/kg do referido mamífero.

[192] Um outro aspecto da presente invenção inclui os casos em que a deficiência cognitiva é causada por hipofunções colinérgicas.

[193] Um aspecto adicional da presente invenção inclui onde a deficiência cognitiva é causada por uma diminuição dos receptores de glutamato na camada celular granular (CA1) do hipocampo do referido mamífero.

[194] Outro aspecto da presente invenção inclui onde o Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou os seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allylline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação destes, causa um aumento dos receptores de AMPA na camada celular granular (CA1) do hipocampo do referido mamífero.

[195] Um outro aspecto da presente invenção inclui onde o Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou os seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allylyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação deste, causa um aumento da plasticidade neuronal causada pelo referido composto de cPG na camada celular granular (CA1) e na camada celular piramidal (CA3) das regiões do hipocampo do referido mamífero.

[196] Um aspecto adicional da presente invenção inclui a hipoxia/iscémia cerebral causada por lesão cerebral traumática.

[197] Outro aspecto da presente invenção inclui a deficiência cognitiva causada pela demência multi-infarto.

[198] Um outro aspecto da presente invenção inclui a lesão cognitiva causada por cirurgia de bypass arterial coronário.

[199] Um aspecto adicional da presente invenção inclui a deficiência cognitiva causada pela doença de Alzheimer, perda de memória, sintomas de défice de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[200] Um quarto aspecto da presente invenção inclui um método de prevenção dos sintomas de uma ligeira deficiência cognitiva causada ou associada a uma doença, lesão ou condição num mamífero que dela necessite, incluindo: a) o fornecimento de um mamífero com necessidade de prevenir um défice cognitivo causado por uma doença, lesão ou condição; b) a administração de uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine cíclica

(cPG) ou dos seus análogos (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente denominado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, para o mamífero; em que a doença é seleccionada do grupo constituído pela doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência, e demência multi-infarto, perda de memória, sintomas de défice de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[201] Prevenir os sintomas de uma ligeira deficiência cognitiva refere-se geralmente a acções que seriam realizadas para prevenir a fase sintomática e principalmente para reduzir o risco de doença. Normalmente, a prevenção na demência pode ser referida como níveis de prevenção: primária, secundária e terciária.

[202] Nas demências degenerativas, a fase de prevenção secundária pode aplicar-se à fase de deficiência cognitiva ligeira. Nesta fase, os sintomas estão presentes mas não são suficientemente graves para constituírem demência. Por conseguinte, o tratamento de compostos de cPG destinados a indivíduos com ICM poderia ser considerado como estudos de prevenção secundária.

[203] A prevenção terciária refere-se a um tratamento destinado a travar a progressão da doença, uma vez estabelecida. O objectivo é reduzir a incapacidade e melhorar o prognóstico a longo prazo dos indivíduos com a deficiência cognitiva ligeira.

[204] Um quinto aspecto da presente invenção inclui um método de tratamento dos sintomas de uma deficiência cognitiva ligeira causada ou associada a uma doença, lesão, ou condição num mamífero que dela necessite, incluindo: a) o fornecimento a um mamífero com necessidade de tratamento de uma deficiência cognitiva causada por uma doença, lesão ou condição; b) a administração de uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine cíclica (cPG) ou dos seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline, ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG),

colectivamente denominados um composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, ao mamífero; em que a doença é seleccionada do grupo constituído pela doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência, e demência multi-infarto, perda de memória, sintomas de défice de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[205] O tratamento dos sintomas de uma ligeira deficiência cognitiva refere-se geralmente ao tratamento da função cognitiva, ou do processo do pensamento, inclui mas não se limita a capacidades como a aprendizagem, a leitura, a fala e a escrita. Os doentes com uma ligeira deficiência cognitiva mantêm estas importantes capacidades cognitivas, necessárias para gerir as suas actividades diárias, mas têm dificuldade em recordar acontecimentos recentes ou informações recentemente adquiridas. As memórias a longo prazo tendem a permanecer intactas. Em particular, ver Experiência 12, Ensaio Clínico em Pacientes com Alzheimer com Deficiência Cognitiva Ligeira.

[206] Os neurónios, estão entre os mais antigos de todos os tipos de células animais especializadas. A sua estrutura é como a de nenhuma outra classe de células. O desafio central do desenvolvimento do crescimento neural é como causar o crescimento dos axónios e dendritos, encontrar os seus parceiros certos, e sinapse com eles de forma selectiva para criar uma rede funcional.

[207] Um sexto aspecto da presente invenção inclui um método de crescimento neuronal crescente ou formação de sinapse num mamífero causado por ou associado a uma doença, lesão ou condição num mamífero que dela necessite, incluindo: a) fornecer a um mamífero com necessidade de aumentar o crescimento neuronal ou a formação de sinapse; b) administrar uma quantidade eficaz de uma composição que compreende uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine (cPG) cíclico ou seus análogos (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-

Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado cPG, ou uma combinação dos mesmos, ao mamífero; em que a doença é seleccionada do grupo constituído pela doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência, e demência multi-infarto, perda de memória, sintomas de défice de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[208] Um sétimo aspecto da presente invenção inclui um método para aliviar ou aliviar a deficiência cognitiva causada por uma doença, lesão ou condição de um mamífero que dela necessite, incluindo a) fornecer a um mamífero que necessite de aliviar ou aliviar uma deficiência cognitiva causada por uma doença, lesão, ou condição; e b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine (cPG) cíclica ou análoga (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente denominado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, ao mamífero; em que a doença é seleccionada do grupo constituído pela doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência, e demência multi-infarto, perda de memória, sintomas de défice de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical; além disso, onde a lesão é seleccionada do grupo que consiste em lesão neurotóxica, hipoxia/isquémia cerebral, lesão cerebral traumática, cirurgia de bypass da artéria coronária, onde a referida condição é o envelhecimento normal, perda de memória relacionada com a idade, perda de memória, hipofunção colinérgica, estreitamento ou bloqueio vascular no cérebro, neuroinflamação, ligeiro comprometimento cognitivo, atrofia cerebral, degeneração frontotemporal dos lóbulos, doença de Pick, infecção por HIV, síndrome de Down, e perda de plasticidade

sináptica; além disso, o referido mamífero destina-se a aliviar ou atenuar o déficit cognitivo causado por uma doença, lesão ou condição, incluindo a doença de Alzheimer, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[209] Outro aspecto da presente invenção inclui onde no ciclo Prolyl Glycine (cPG) ou nos seus análogos (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, compreende uma solução aquosa e um ou mais excipientes, aditivos, portadores ou adjuvantes farmacologicamente aceitáveis.

[210] Um outro aspecto da presente invenção inclui onde no ciclo Prolyl Glycine (cPG) ou seus análogos (ciclo(tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente designado por um composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, inclui ainda um ou mais excipientes, portadores, aditivos, adjuvantes ou aglutinantes numa pastilha ou cápsula.

[211] Um aspecto adicional da presente invenção inclui a doença em que o distúrbio é uma deficiência cognitiva ligeira, doença de Alzheimer, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-seniana, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[212] Outro aspecto da presente invenção inclui onde o ciclo Prolyl Glycine (cPG) ou os seus análogos (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, é administrado através de um oral, intraperitoneal, intravascular, circulação periférica, subcutânea, intraorbital, oftálmica, intra-espinhal,

intracisternal, tópica, infusão, implante, aerossol, inalação, escarificação, intracapsular, intramuscular, intranasal, bucal, transdérmica, pulmonar, rectal, vaginal, ou uma combinação destes, via de administração.

[213] Um outro aspecto da presente invenção inclui a quantidade farmacologicamente eficaz, em que a quantidade farmacêutica tem um limite inferior de cerca de 0,001 miligramas por quilograma de massa (mg/kg) do referido mamífero e um limite superior de cerca de 100 mg/kg do referido mamífero.

[214] Um aspecto adicional da presente invenção inclui os casos em que a deficiência cognitiva é causada por hipofunções colinérgicas.

[215] Outro aspecto da presente invenção inclui onde a hipofunção colinérgica é causada pela escopolamina.

[216] Um outro aspecto da presente invenção inclui a perda de memória relacionada com a idade, a perda de memória cognitiva, MCI ("Mild Cognitive Impairment" or "deficiência cognitiva ligeira"), doença de Alzheimer, perda de memória, sintomas de défice de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[217] Um aspecto adicional da presente invenção inclui onde a deficiência cognitiva é causada por uma diminuição dos receptores de glutamato na camada celular granular (CA1) do hipocampo do referido mamífero.

[218] Outro aspecto da presente invenção inclui onde o composto cPG causa um aumento dos receptores AMPA na camada celular granular (CA1) do hipocampo do referido mamífero.

[219] Um outro aspecto da presente invenção inclui onde o Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou os seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação deste, causa um aumento da plasticidade neuronal causada

pelo referido composto de cPG na camada celular granular (CA1) e na camada celular piramidal (CA3) das regiões do hipocampo do referido mamífero.

[220] Um aspecto adicional da presente invenção inclui a hipoxia/iscémia cerebral causada por lesão cerebral traumática.

[221] Outro aspecto da presente invenção inclui a deficiência cognitiva causada pela demência multi-infarto.

[222] Um outro aspecto da presente invenção inclui a lesão cognitiva causada por cirurgia de bypass arterial coronário.

[223] Um aspecto adicional da presente invenção inclui a deficiência cognitiva causada pela doença de Alzheimer, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[224] Um oitavo aspecto da presente invenção inclui um método de prevenção dos sintomas de uma ligeira deficiência cognitiva causada ou associada a uma doença, lesão ou condição num mamífero que dela necessite, incluindo: a) o fornecimento a um mamífero com necessidade de prevenir um déficit cognitivo causado por uma doença, lesão ou condição; e b) a administração de uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine cíclica (cPG) ou dos seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente denominada cPG, ou uma combinação das mesmas, ao mamífero; em que a doença é seleccionada do grupo constituído pela doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência, e demência multi-infarto, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[225] Um nono aspecto da presente invenção inclui um método de tratamento dos sintomas de uma ligeira deficiência cognitiva causada por ou associada a uma doença, lesão ou condição num mamífero que dela necessite, incluindo: a) o fornecimento a um mamífero com necessidade de tratamento de uma deficiência cognitiva causada por uma doença, lesão ou condição; e b) a administração de uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine cíclica (cPG) ou dos seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente denominados um composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, ao mamífero; em que a doença é seleccionada do grupo constituído pela doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência, e demência multi-infarto, perda de memória, sintomas de défice de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[226] Um décimo aspecto da presente invenção inclui um método de crescimento neuronal crescente ou formação de sinapse num mamífero causado por ou associado a uma doença, lesão ou condição num mamífero que dela necessite, incluindo: a) o fornecimento de um mamífero que necessite de crescimento neuronal crescente ou formação de sinapse; e b) a administração de uma quantidade eficaz de uma composição que inclua uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine (cPG) cíclica ou a sua análogos (tri(tri(Prolyl Glycine) ou Glycyl-2-Allyl Proline cíclico, ou Glycyl-Alkyl Proline cíclico ou Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG) cíclico, colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação destes, para o mamífero; em que a doença é seleccionada do grupo constituído pela doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência, e demência multi-infarto, perda de memória, sintomas de défice de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil,

demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

[227] Um décimo primeiro aspecto da presente invenção inclui um método de modulação da neurogênese no tecido neural de um paciente que apresente pelo menos um sintoma de uma perturbação do sistema nervoso central que seja neurodegenerativa, perturbações isquémicas, traumas neurológicos, perturbações da aprendizagem e da memória, ou uma combinação destas, administrando Prolyl Glycine cíclica (cPG) ou os seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyllyl Proline), ou Glycyl-Alkyl Proline cíclico ou Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG) cíclico, colectivamente chamado composto cPG, ou uma combinação deste, ou os seus análogos funcionais ou activos, variantes, derivados, que têm a mesma função, substancialmente a mesma, ou similar que o cPG, e combinações destes, em que o agente modula a neurogênese no paciente, modulando assim a neurogênese no tecido neural do paciente.

[228] A neurogênese é o processo pelo qual novos neurónios surgem a partir de células estaminais neuronais e células progenitoras, amadurecem, especializam-se e tornam-se integrados e funcionais dentro da rede neuronal. A neurogênese modulante no tecido neural refere-se geralmente ao método de exercer uma influência modificadora ou controladora sobre o crescimento neuronal no cérebro humano.

[229] Outro aspecto da presente invenção inclui a doença de Alzheimer, doença de Parkinson e Parkinson, esclerose múltipla da doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica, síndrome de Shy-Drager, paralisia supranuclear progressiva, doença de Lewy Body, isquemia espinal, derrame isquémico, enfarte cerebral, lesão da medula espinal, e lesão cerebral e da medula espinal relacionadas com cancro, demência multi-infarto, demência geriátrica, deficiência ligeira de cognição, depressão e lesão traumática.

[230] Um outro aspecto da presente invenção inclui onde a neurogênese modulante é executada por uma activação de um receptor GPCR no referido tecido neural.

[231] Um aspecto adicional da presente invenção inclui onde o agente é administrado a uma quantidade de Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou

cyclic Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação destes, a partir de cerca de 0,1 mg a cerca de 10 mg/kg por dia, de cerca de 0,5 mg a cerca de 20 mg/kg por dia, de cerca de 0,2 mg a cerca de 40 mg/kg por dia, de cerca de 5 mg a cerca de 50 mg/kg por dia, ou de cerca de 10 microgramas a cerca de 100 mg/kg por dia.

[232] Um décimo segundo aspecto da presente invenção inclui um método de modulação da neurogénese no tecido neural de um paciente que apresente pelo menos um sintoma de uma perturbação do sistema nervoso central que seja neurodegenerativa, perturbações isquémicas, traumas neurológicos, perturbações da aprendizagem e da memória, ou uma combinação destas, administrando ao referido paciente uma quantidade de Prolyl Glycine cíclica (cPG) ou os seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente denominados um composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, suficiente para aumentar as células estaminais neurais adultas do referido paciente e reduzir pelo menos um sintoma da referida doença.

[233] Outro aspecto da presente invenção inclui a doença de Alzheimer, doença de Parkinson e Parkinson, esclerose múltipla da doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica, síndrome de Shy-Drager, paralisia supranuclear progressiva, Doença do corpoewy, isquemia espinal, derrame isquémico, enfarte cerebral, lesão da medula espinal, e lesão cerebral e da medula espinal relacionadas com cancro, demência multi-infarto, demência geriátrica, deficiência de cognição, depressão, lesão traumática, ou uma combinação destas.

[234] Outro aspecto da presente invenção inclui onde o Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou os seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyllyl, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, é administrado de cerca de 0,01 mg/kg a cerca de 100 mg por quilograma de peso corporal por dia.

[235] Um décimo terceiro aspecto da presente invenção inclui um método de tratamento da depressão ou outro distúrbio psicológico de um sujeito, incluindo: a) fornecer ao sujeito que necessita de tratamento de depressão ou outras perturbações psicológicas; e b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou seus análogos (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação destes, ao sujeito; em que o sujeito é tratado para depressão ou outras perturbações psicológicas.

[236] Os sintomas da depressão podem variar de suave a grave e podem incluir: sentir-se triste ou ter um humor depressivo, perda de interesse ou prazer em actividades uma vez desfrutadas, alterações no apetite - perda de peso ou ganho não relacionado com a dieta, dificuldade em dormir ou dormir demais, perda de energia ou fadiga aumentada, dificuldade em pensar, concentração ou tomada de decisões, e pensamentos de morte ou suicídio.

[237] Outro aspecto da presente invenção inclui onde o ciclo Prolyl Glycine (cPG) ou os seus análogos (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, compreende uma solução aquosa e um ou mais excipientes, aditivos, portadores ou adjuvantes farmacologicamente aceitáveis.

[238] Um outro aspecto da presente invenção inclui onde no ciclo Prolyl Glycine (cPG) ou seus análogos (ciclo(tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente denominado um composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, inclui ainda um ou mais excipientes, portadores, aditivos, adjuvantes ou aglutinantes numa pastilha ou cápsula.

[239] Um aspecto adicional da presente invenção inclui onde o ciclo Prolyl Glycine (cPG) ou os seus análogos (ciclo(tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, é administrado por via oral, intraperitoneal, intravascular, circulação periférica, subcutânea, intraorbital, oftálmica, intra-espinhal, intracisternal, tópica,

infusão, implante, aerossol, inalação, escarificação, intracapsular, intramuscular, intranasal, bucal, transdérmica, pulmonar, rectal, vaginal, ou uma combinação destes, via de administração.

[240] Outro aspecto da presente invenção inclui onde a quantidade farmacologicamente eficaz tem um limite inferior de cerca de 0,1 miligramas por quilograma de massa (mg/kg) do referido mamífero e um limite superior de cerca de 10 mg/kg do referido mamífero.

[241] Um outro aspecto da presente invenção inclui a quantidade farmacologicamente eficaz entre cerca de 20 mg e cerca de 80 mg por dia administrada oralmente e pode ir até 100 mg por dia para alguns casos graves por ordem de prescrição médica.

[242] Um décimo terceiro aspecto da presente invenção inclui um método de prevenção dos sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos do sujeito que deles necessita, incluindo: a) fornecer ao sujeito que necessita de prevenir a depressão ou outros distúrbios psicológicos; b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline, ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente denominados um composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, ao sujeito; em que o sujeito é impedido de desenvolver os sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos.

[243] A prevenção dos sintomas da depressão refere-se geralmente à prevenção de doenças médicas que afectam negativamente a forma como a pessoa se sente, pensa e age. A depressão provoca sentimentos de tristeza e/ou uma perda de interesse em actividades que uma vez desfrutadas. Pode levar a uma variedade de problemas emocionais e físicos e pode diminuir a capacidade de uma pessoa de funcionar no trabalho e em casa. Em particular, ver Experiência 15.

[244] Um décimo quarto aspecto da presente invenção inclui um método de tratamento dos sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos de um sujeito que deles necessite, incluindo: a) fornecer a um sujeito com necessidade de tratamento de depressão ou outros distúrbios psicológicos; b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl

Glycine cíclico (cPG) ou os seus análogos (cyclic(tri(Prolyl Glycine) ou cyclic Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou cyclic Glycyl-Alkyl Proline ou cyclic Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente denominados um composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, ao mamífero; em que o sujeito é tratado para os sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos.

[245] Os sintomas de depressão podem variar de suave a grave e podem incluir: sentir-se triste ou ter um humor depressivo, perda de interesse ou prazer em actividades uma vez desfrutadas, alterações no apetite - perda de peso ou ganho não relacionado com a dieta, dificuldade em dormir ou dormir demais, perda de energia ou fadiga aumentada, dificuldade em pensar, concentração ou tomar decisões, e pensamentos de morte ou suicídio.

[246] Um décimo quinto aspecto da presente invenção inclui um método para o tratamento de pacientes mentalmente deprimidos, incluindo: a) o fornecimento de um sujeito com necessidade de tratamento de depressão ou outros distúrbios psicológicos; b) administrar a um paciente que sofre de depressão mental uma quantidade farmacologicamente eficaz (tal como, mas não limitada a 20 mg a 80 mg por dia) de Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou seus análogos (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos; em que o sujeito é tratado para depressão mental.

[247] O tratamento de doentes com depressão mental tem geralmente referido a utilização de antidepressivos disponíveis no mercado que normalmente aumentam o risco de pensamentos e comportamentos suicidas em crianças, adolescentes, e jovens adultos em estudos a curto prazo. Na presente invenção, foi demonstrado que o cPG serve como um antidepressivo eficaz com poucos ou nenhuns efeitos adversos, ver Experiência 15.

[248] Um décimo sexto aspecto da presente invenção inclui um método para aliviar ou aliviar os sintomas da depressão ou outros distúrbios psicológicos de um sujeito que deles necessite, incluindo: a) proporcionar ao sujeito que necessita de aliviar ou aliviar a depressão ou outras perturbações psicológicas; b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine cíclica (cPG) ou os seus análogos (ciclo

(tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, ao mamífero; em que o sujeito é aliviado para os sintomas de depressão ou outras perturbações psicológicas.

[249] Um décimo sétimo aspecto da presente invenção inclui um método para intervir ou prevenir a cascata de depressão ou outros distúrbios psicológicos de um sujeito que deles necessite, incluindo: a) fornecer ao sujeito que necessita de intervenção ou prevenção da depressão ou outros distúrbios psicológicos; b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolyl Glycine cíclico (cPG) ou os seus análogos (ciclo (tri(Prolyl Glycine) ou ciclo Glycyl-2-Allyllyl Proline, ou ciclo Glycyl-Alkyl Proline ou ciclo Glycyl-2-Methyl-Proline (cPMeG), colectivamente chamado um composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, ao mamífero; em que o sujeito é prevenido dos sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos.

[250] Embora existam tratamentos bem estabelecidos para a depressão, as estimativas sugerem que a maioria das pessoas com depressão não recebe os cuidados apropriados.

[251] A intervenção atempada é um elemento importante do modelo de cuidados contínuos a pessoas com Episódios Depressivos Maiores. Em particular, ver Experiência 15.

## **EXEMPLOS**

[252] Os seguintes estudos in vitro e in-vivo demonstram a eficácia do Prolyl Glycine cíclico na redução do défice cognitivo. Não se destinam a ser limitativos, e outras composições e métodos desta invenção podem ser desenvolvidos sem experimentação indevida. Todas as experiências seguintes foram realizadas utilizando protocolos desenvolvidos ao abrigo de directrizes aprovadas pelo Comité de Ética Animal e pelo Conselho de Revisão Institucional. Cyclic Prolyl Glycine está disponível em fornecedores comerciais tais como Bachem (Torrance, Califórnia), e Sigma (St. Louis, Mo.),

### **Experiência 1:**

[253] O Cyclic PG previne a morte neuronal induzida pelo glutamato in vitro de uma forma relacionada com a dose.

### Materiais e Métodos:

[254] Cultura celular cerebelar Preparação e revestimento de lâminas de cobertura.

[255] Dez lamelas foram colocadas numa grande placa de petri e lavadas em álcool a 70% durante 5 minutos, depois lavadas com Millipore H<sub>2</sub>O. As lamelas foram secas ao ar, depois revestidas com Poly-D-Lysine (1 mg/ml de solução de reserva em PBS, 90-100 µl) e incubadas durante 2 horas em 34° C.

### Extracção

[256] Os ratos Wistar do 4º dia pós-natal foram utilizados para o estudo. Os ratos foram colocados em gelo durante 1 minuto, as cabeças foram decapitadas e o cerebelo retirado em gelo. O tecido cerebelino foi colocado em 1 ml de 0,65% de glucose complementada PBS (10 µl 65% de caldo D (+)glucose/1 ml PBS) numa grande placa de petri, cortado em secções mais pequenas e triturado com uma seringa de insulina de 1 ml através de uma agulha de 23 G (0,4 mm), e depois esguichado de volta para a solução de glucose na grande placa de petri. O tecido foi peneirado (125 µm pore size gaze) e centrifugado (2 minutos a 60 g) duas vezes para uma troca média em meio START V sem soro (Biochrom). A segunda etapa de centrifugação foi feita com 1 ml de meio START V. As microexplantes foram reconstituídas em 500 µl de meio START V e colocadas em gelo.

### Cultivo e fixação de células cerebelares

[257] Duas horas após o revestimento PDL, as lâminas foram lavadas com Millipore H<sub>2</sub>O e secas ao ar. Cada lâmina foi colocada numa pequena placa de petri de 35 mm e acrescentou-se 40 µl de START V/suspensão de células. O tecido foi incubado durante 2 horas em 34° C (período de incubação). START V-medium (1 ml) foi então adicionado à placa de petri e cultivado em 34° C/ 5% de CO<sub>2</sub>/100% de humidade durante 48 horas. As células foram lavadas em PBS e depois fixadas durante 2-3 minutos em concentrações crescentes de paraformaldeído (500 µl de 0,4% PFA foi aplicado; depois 1,2% PFA; depois 3% PFA e finalmente 4% PFA – todas as soluções de fixação contêm 0,2% de glutardialdeído). Finalmente, os microexplantes foram enxaguados em PBS.

### Aplicação do fármaco

[258] 10 µl de toxina (L-glutamato-100 mM em água de Millipore) foi aplicado simultaneamente com cPG (de bachem, 10 mM de stock preparado em PBS e diluído até concentrações finais entre 1-100 nM) para o Estudo 1. Um atraso na administração de cPG às 6 horas após o tratamento com glutamato foi realizado para o Estudo 2.

### Resultado:

[259] Estudo 1: O tratamento com glutamato resultou em 85% de perda de neurónios cerebelais. O PG cíclico reduziu significativamente a morte neuronal induzida pelo glutamato de uma maneira dose de resposta quando administrado simultaneamente com o glutamato (Figura 3). Os tratamentos com doses mais baixas de cPG (10-100 nM) mostraram uma recuperação significativa da neurotoxicidade induzida pelo glutamato.

[260] Estudo 2: O Cyclic PG mostrou uma recuperação significativa da neurotoxicidade induzida pelo glutamato numa gama de doses de 1-100 nM quando administrado 6 horas após o tratamento com glutamato, em comparação com o grupo tratado com o veículo (Figura 4).

[261] Uma dose mais baixa de cPG também mostrou um aumento significativo do número de neurónios em comparação com o grupo de controlo normal, sugerindo um papel do cPG na proliferação e diferenciação neuronal.

### Conclusões

[262] O glutamato excessivo pode causar excitotoxicidade neuronal por receptores activos de NMDA. cPG preveniu completamente a neurotoxicidade induzida pelo glutamato, quando administrado imediatamente ou 6 horas após o tratamento com glutamato, actuando como agonista directo ou indirecto do NMDA. Dado que o cPG pode agonizar o receptor mGlu2/3, o que pode inibir a actividade do NMDA. GPE, a pré-hormona para cPG demonstrou ser um receptor parcial de NMDA na promoção do pCREB, provavelmente devido ao seu efeito anticoncepcional nos receptores mGlu2/3. O cPG pode estar envolvido na prevenção de neurónios em apoptose porque o cPG pode ser eficaz como tratamento retardado, e promover a proliferação neuronal.

**Experiência 2:**

[263] Cyclic (tri(prolylglycyl)) ou c(PG)3 previne a morte neuronal induzida pelo glutamato in vitro de uma forma relacionada com a dose.

[264] Materiais e Métodos: (ver acima a Experiência 1, que é incorporada por referência aqui).

**Aplicação de drogas**

[265] 10 µl de toxina (L-glutamato-100 mM em água de Millipore) foi aplicado simultaneamente com ciclo(tri(prolylglycyl)) (que foi obtido de NeuroBiomed, San Jose, Califórnia), 10 mM de stock preparado em PBS e diluído até concentrações finais entre 1-100 nM) para o Estudo 1. Um atraso na administração de cíclico(tri(prolylglycyl)) às 6 horas após o tratamento com glutamato foi realizado para o Estudo 2.

**Resultado:**

[266] Estudo 1: O tratamento com glutamato resultou em 85% de perda de neurónios cerebelicais. cíclico(tri(tri(prolylglicilo)) reduziu significativamente a morte neuronal induzida pelo glutamato em 57% numa forma de resposta em dose quando administrado simultaneamente com glutamato. Os tratamentos com doses mais baixas de cíclico(tri(tri(prolylglicilo)) (10-100nM) mostrou uma recuperação significativa da neurotoxicidade induzida pelo glutamato.

[267] Estudo 2: cíclico(tri(prolylglycyl)) mostrou uma melhoria de aproximadamente 43% de recuperação significativa da neurotoxicidade induzida pelo glutamato numa gama de doses de 1-100nM quando administrada 6 horas após o tratamento com glutamato, em comparação com o grupo tratado com o veículo.

[268] Uma dose mais baixa de cíclico(tri(prolylglycyl)) também mostrou um aumento significativo do número de neurónios em comparação com o grupo de controlo normal, sugerindo um papel do cPG na proliferação e diferenciação neuronal.

**Experiência 3:**

[269] O Glicil-2-Metil Proline cíclico previne a morte neuronal in vitro induzida pelo glutamato de uma forma relacionada com a dose.

[270] Materiais e Métodos: (ver acima a Experiência 1 e a Experiência 2, que é incorporada por referência aqui)

#### Aplicação de drogas

[271] 10 µl de toxina (L-glutamato-100 mM em água de Millipore) foi aplicado simultaneamente com o ciclo Glycyl-2-Methyl Proline (obtido NeuroBiomed, San Jose Califórnia), 10 mM de caldo preparado em PBS e diluído até concentrações finais entre 1-100 nM) para o Estudo 1. Um atraso na administração de cPG às 6 horas após o tratamento com glutamato foi realizado para o Estudo 2.

#### Resultado:

[272] Estudo 1: O tratamento com glutamato resultou em 85% de perda de neurónios cerebelais. O Glycyl-2-Methyl Proline cíclico reduziu significativamente a morte neuronal induzida pelo glutamato em 63% de uma forma de resposta em dose quando administrado simultaneamente com o glutamato. Os tratamentos com doses mais baixas de Glicil-2-Metil Proline cíclico (10-100 nM) mostraram uma recuperação significativa a neurotoxicidade induzida pelo glutamato.

[273] Estudo 2: o glicil-2-Metil Proline cíclico mostrou uma melhoria de aproximadamente 58% de recuperação significativa da neurotoxicidade induzida pelo glutamato numa gama de doses de 1-100nM quando administrado 6 horas após o tratamento com glutamato, em comparação com o grupo tratado com o veículo.

[274] Uma dose mais baixa de Glycyl-2-Methyl Proline cíclico também mostrou um aumento significativo no número de neurónios em comparação com o grupo de controlo normal, sugerindo um papel do cPG na proliferação e diferenciação neuronal.

#### Conclusões

[275] O glutamato excessivo pode causar excitotoxicidade neuronal por receptores activos de NMDA. Os análogos cíclicos PG, cíclico(tri(propylglycyl)) e cíclico Glycyl-2-Methyl Proline impediram significativamente a neurotoxicidade induzida pelo glutamato, quando

administrado imediatamente ou 6 horas após o tratamento com glutamato, actuando como agonista directo ou indirecto do NMDA.

[276] O PG cíclico e os seus análogos, tais como, mas não limitados a cíclico(tri(prolilglicil)) e cíclico Glycyl-2-Methyl Proline, podem ser utilizados na prevenção de neurónios submetidos a apoptose, porque os compostos de cPG podem ser eficazes como tratamento retardado, e promover a proliferação neuronal.

#### **Experiência 4:**

[277] Efeitos do cPG após a lesão nigral-striatal induzida pelo 6-OHDA.

##### **Materiais e métodos**

[278] Foram utilizados vinte ratos Wistar machos (280-310 g). Após exposição do crânio, 6-OHDA (8 g numa base de 2 l 0,9% de soro fisiológico contendo 1% de ácido ascórbico) foi administrado no feixe medial direito do cérebro (MFB) usando coordenadas AP +4,7 mm, R 1,6 mmv -8 mm abaixo de 3% de anestesia halotânica. 6-OHDA foi injectado através de uma agulha de 25G ligada através de um cateter de polietileno a uma seringa de 100 l de Hamilton. A 6-OHDA foi infundida por uma bomba de infusão de microdiálise a uma taxa de 0,5l/min. A agulha foi deixada no cérebro por mais 3 minutos antes de ser lentamente retirada. A pele foi suturada com seda 2,0 e os ratos foram autorizados a recuperar da anestesia. Os ratos foram alojados numa sala de espera com livre acesso a comida e água em todos os momentos, excepto durante os testes comportamentais.

[279] O PG cíclico foi dissolvido em soro fisiológico. Quatro doses diferentes de cPG (0, 0,1, 0,5, 1 mg/kg, Bachem) foram administradas intraperitonealmente 2 horas após a lesão.

[280] Aos 7 dias pós-lesão, os ratos foram injectados com 0,1 mg/kg de apomorfina e o número de rotações contralaterais/hora foi registado e calculado utilizando um Rotâmetro computadorizado (St Diego Instruments). O experimentador foi cego dos grupos de tratamento.

##### **Resultado:**

[281] O grupo tratado com 1 mg cPG (n=5, 154 ±64) mostrou uma tendência para uma redução no número de rotações em comparação com o grupo tratado do veículo (n=5, 290

±18) indicando que o cPG em melhora a recuperação funcional em 6-OHDA induziu lesão nigrostriatal. (Figura 5).

#### **Experiência 5:**

[282] Efeitos da lesão 6-OHDA induzida nigrostriatal cíclica(tri(prolylglycyl)) após lesão nigrostriatal induzida pelo 6-OHDA.

[283] Materiais e Métodos (ver acima a Experiência 1, Experiência 2, Experiência 3, e Experiência 4, que é incorporada por referência aqui).

[284] Cyclic(tri(prolylglycyl)) foi dissolvido em solução salina. Quatro doses diferentes de Cyclic(tri(prolylglycyl)) (0, 0,1, 0,5, 1 mg/kg, NeuroBiomed) foram administrados intraperitonealmente 2 horas após a lesão.

[285] O grupo tratado com 1 mg cíclico(tri(prolylglycyl)) (n=5, 172±69) mostrou uma tendência para a redução do número de rotações em comparação com o grupo de veículos tratados (n=5, 290 ±18) indicando um papel para o ciclo (tri(tri(prolylglycyl)) na melhora da recuperação funcional em 6-OHDA induziu lesão nigrostriatal.

#### **Conclusões**

[286] Cyclic(tri(prolylglycyl)) melhorou a recuperação funcional após lesões 6-OHDA induzidas por lesões nigro-striatais de uma forma relacionada com a dose.

[287] Estes dados indicam que o Cyclic(tri(prolylglycyl)) pode ser utilizado como tratamento para a doença de Parkinson e outras perturbações neurológicas.

#### **Experiência 6:**

[288] Efeitos do Cíclico Glycyl-2-Methyl Proline após lesão nigro-striatal induzida por 6-OHDA.

[289] Materiais e Métodos (ver acima a Experiência 1 até à Experiência 5, que são incorporados por referência aqui)

[290] O Glicil-2-Metil Proline (cGMeP) cíclico foi dissolvido em solução salina. Quatro doses diferentes de cGMeP (0, 0,1, 0,5, 1 mg/kg, NeuroBiomed) foram administradas intraperitonealmente 2 horas após a lesão.

[291] O grupo tratado com 1mg de cGMeP (n=5, 134±69) mostrou uma tendência para uma redução significativa no número de rotações em comparação com o grupo tratado com veículo (n=5, 292±21) indicando um papel do cGMeP na melhoria da recuperação funcional em 6-OHDA induziu lesão nigrostriatal.

### Conclusões

[292] O Cíclico Glycyl-2-Methyl Proline melhorou a recuperação funcional após lesões nigrostriatais induzidas pelo 6-OHDA de uma forma relacionada com a dose.

[293] Estes dados indicaram que o Cyclic Glycyl-2-Methyl Proline tem eficácia como tratamento para a doença de Parkinson.

### **Experiência 7:**

[294] Modelo de Aprendizagem e Memória de Morris Water Maze (MWM) Utilizado para Avaliar os Efeitos da Glicina Prolil Cíclica na Função Cognitiva.

[295] O cPG administrado a animais tratados com disfunção cognitiva induzida por escopolamina produz uma melhoria clínica nesses animais, semelhante à melhoria terapêutica observada em pessoas que sofrem de hipofunção colinérgica. A escopolamina é geralmente utilizada em modelos animais de hipofunção colinérgica associada à doença de Alzheimer. Os défices funcionais observados após o tratamento com escopolamina incluem os encontrados em pacientes humanos com doença de Alzheimer. Assim, o tratamento com escopolamina é razoavelmente preditivo dos défices cognitivos encontrados em doenças humanas. Além disso, o tratamento com escopolamina imita as disfunções cognitivas em humanos que não têm distúrbios neurodegenerativos.

[296] O objectivo do estudo era investigar Prolyl Glycine cíclico para avaliar o seu impacto no défice cognitivo e estado afectivo (ansiedade).

### Métodos

[297] A primeira parte do estudo envolveu o teste agudo do Prolyl Glycine cíclico no modelo de memória Morris Water Maze. O teste MWM é um dos testes mais frequentemente utilizados para avaliar a memória espacial em ratos e é bem reconhecido para prever com

precisão os efeitos da doença e do tratamento na memória espacial em geral. Portanto, o teste MWM reflecte os efeitos da doença e do tratamento em sujeitos humanos.

[298] O procedimento padrão para o MWM foi seguido. Foi utilizada uma piscina circular (80 cm de profundidade × 150 cm de diâmetro) cheia de água opaca, com a temperatura mantida a 20°C. Uma plataforma foi escondida 1 cm abaixo da superfície da água, com uma bandeira branca (10 cm×10 cm) localizada 20 cm acima da plataforma para o taco visual e na posição das 3 horas em relação ao local de partida para um taco espacial. Nos dias 1-4 da experiência, os ratos foram submetidos a ensaios de aquisição de memória com 6 ensaios (60 segundos cada) em cada dia de ensaio (fase de habituação). A latência para chegar à plataforma foi registada e a redução diária da latência média foi utilizada para medir a capacidade de aprender onde estava a plataforma oculta.

[299] No quinto dia da experiência normal, ratos Wistar não envelhecidos foram divididos em grupos para receber salina (N=12) ou escopolamina (0,5 mg/kg, i.p., N=12) para induzir um défice de memória. A escopolamina foi administrada meia hora antes de se iniciar o teste da sonda.

[300] 10 min após o tratamento com escopolamina, o Prolyl Glycine cíclico foi administrado oralmente a 10 mg/kg (N=16) com animais tratados com veículo a administrar o diluente por gavagem oral usando um protocolo de tratamento idêntico (n=15).

#### QUADRO 1:

[301] Animais utilizados para testar os efeitos do cPG na memória

	Scopolamine	Vehicle
Vehicle	N = 12	N = 12
cPG	N = 16	N = 15

[302] Os efeitos agudos do cPG foram então testados em animais com perda de memória induzida por escopolamina e em animais de controlo de idade sem perda de memória para determinar qualquer efeito farmacológico directo no processamento de memória. Os grupos experimentais estão detalhados no Quadro 1 abaixo.

[303] No dia 5, o teste da sonda MWM foi realizado com a plataforma removida. Houve 6 ensaios, cada um com uma duração máxima de 60 s, pelo menos 5 minutos de repouso entre ensaios). O tempo que os ratos passam a nadar perto da plataforma forneceu uma medida de quanto eles confiaram na pista visual e espacial para localizar a plataforma, em oposição à utilização de uma estratégia não espacial. Os dados foram recolhidos e analisados utilizando o software Any-maze (v4.2).

[304] Os dados gerados a partir de testes comportamentais foram analisados utilizando a ANOVA unidireccional para determinar a diferença entre os grupos de idosos. A ANOVA bidireccional foi utilizada para examinar o progresso dos resultados comportamentais com os pontos de tempo tratados como factores dependentes. O GraphPad Prism versão 3.02 foi utilizado para análise de dados.

### Resultados

[305] Tratamento com escopolamina prejudicou significativamente a aquisição de memória espacial em animais tratados (tempo para a plataforma cerca de 208% do controlo no dia 4). Prolyl Glycine cíclico (20 mg/kg; diariamente) inverteu significativamente a deficiência cognitiva induzida pela escopolamina. (Figura 6).

[306] Estes resultados confirmaram a presença de um efeito colino-positivo em NA-831 na recuperação da capacidade de encontrar uma plataforma submersa (memória espacial) e que este medicamento pode ser eficaz em doentes com ligeira deficiência cognitiva.

### **Experiência 8:**

[307] Determinação da neurogénese testando o cPG e os seus análogos c(PG)3 e cGMeP com Bromodeoxiuridina

#### Objectivo

[308] O objectivo desta experiência é estudar o impacto da infusão intra-peritoneal de cPG e seus análogos c(PG)3 e cGMeP em ratos, co-administrados com BrdU em regiões altamente neurogénicas, incluindo a zona sub ventricular e o giro dentado no hipocampo.

#### Método experimental:

[309] Foram utilizados ratos Wistar machos pesando cerca de 250-270 g (não recém-nascidos). Todas as experiências em animais foram conduzidas de acordo com as diretrizes nacionais e internacionais. Foi tido o cuidado de minimizar o sofrimento dos animais. Os animais foram autorizados a aclimatar-se durante 1 semana antes do início dos estudos. Os animais foram alojados em condições padronizadas com períodos normais de luz-escura e em grupos de cinco animais por gaiola. Os animais tiveram acesso a comida e água ad libitum durante os estudos.

[310] Três agentes moduladores de neurogênese, cPG, c(PG)3 e cGMeP foram administrados separadamente intraperitonealmente a ratos Wistar machos (N=10) a 10 mg/kg em 0,1% de albumina de soro de rato (RSA). O controlo negativo (n=12), o grupo veículo foi injectado com soro fisiológico (em 0,1% RSA). A bromodeoxiuridina (BrdU; 50 mg/kg) foi co-administrada juntamente com os compostos. As injeções intraperitoneal foram dadas com um intervalo de 12 horas durante 7 dias. Os animais foram perfundidos no dia 8. Os ratos foram mantidos em regime de 12 horas de luz/escuro. Na perfusão, os animais foram perfundidos transcranially com 50 ml de solução salina tampão de fosfato gelado (PBS) e depois 100 ml de paraformaldeído a 4% em PBS. Os cérebros foram fixados após remoção em paraformaldeído a 4% em PBS durante 24 horas a 4° C., pelo menos 3 dias antes da secção. Os procedimentos de infusão transcraniana consistem nos seguintes passos:

[311] Os animais foram pesados a 0,1 gramas e foram administrados com pentobarbital de sódio e cetamina/xilazina. Os animais foram colocados numa gaiola aquecida durante 10-15 minutos. Os ratos foram fixados na posição supina (deitados de costas com a face para cima) com as suas patas dianteiras e traseiras presas a uma superfície de trabalho de isopor dentro de uma campânula de fumos químicos. Foi feita uma incisão através da pele com uma tesoura cirúrgica ao longo da linha média torácica, desde logo abaixo do processo xifóide até à clavícula. Foram feitas duas incisões adicionais na pele a partir do processo xifóide ao longo da base da caixa torácica ventral lateralmente. Reflectir suavemente as duas abas da pele rostralmente e lateralmente, certificando-se de expor completamente o

campo torácico. A cartilagem do processo xifóide foi agarrada com uma pinça romba e foi levantada ligeiramente para inserir tesouras pontiagudas. A musculatura torácica e a caixa torácica foram cortadas entre os pontos de inserção do esterno e das costelas mediais e a incisão foi estendida rostralmente até ao nível das clavículas. O diafragma da parede torácica de ambos os lados foi separado com cortes em tesoura. A caixa torácica reflectida foi colada com fita adesiva ou pinçada com agulhas 18G lateralmente para expor o coração e outros órgãos torácicos. O saco pericárdico foi agarrado suavemente com uma pinça romba e foi totalmente rasgado. O coração palpitante foi fixado com uma pinça romba e foi feita uma incisão de 1-2 mm no ventrículo esquerdo. Foi inserida uma agulha de alimentação animal 24G X 25,4 mm com uma ponta bulbosa (aparelho de Harvard Cat. #52-4009). A agulha de alimentação foi enfiada na base do arco aórtico utilizando um microscópio de dissecação. A base da agulha foi fixada ao ventrículo esquerdo acima do local da incisão, utilizando um hemostato. O átrio direito foi cortado imediatamente com uma tesoura e ao primeiro sinal de fluxo sanguíneo, foi iniciada a infusão de soro fisiológico heparinizado (fase 1 perfusato) e continuou até o fluido que saía do átrio direito estar totalmente limpo. O perfusato salino foi alterado para fixador à base de aldeídos (perfusato fase 2) para um total de 20-30 ml de fixador como infundido a um animal. O animal foi decapitado com uma grande tesoura cirúrgica. Os cérebros foram removidos e incrustados em parafina. As secções foram preparadas utilizando um micrótomo congelante e armazenadas em crioprotector a -20° C. antes de serem imunizadas para BrdU. As secções foram imunizadas para BrdU com anti-BrdU de rato emparelhado com um IgG de cabra biotinylated de cabra e visualizadas usando o kit ABC Elite (Vectorlabs. usando instruções de fabrico).

[312] Foram utilizadas técnicas padrão de microscópio de luz para contar o número total de células positivas de BrdU em cada secção e na região relevante do cérebro. Foram realizadas análises e quantificações para regiões cerebrais proliferativas, zona subventricular e os giroscópios dentados no hipocampo. Outros detalhes experimentais não listados aqui são conhecidos por um de perícia na arte e podem ser encontrados por exemplo em Pencea V et al. J. Neurosci Sep. 1 (2001). 21(17):6706-17.

### Resultados

[313] Notadamente, verificou-se que os ratos que receberam infusão intra-peritoneal de cPG, c(PG)3 e cGMeP a 10 mg/kg em 0,1% RSA, co-administrados com BrdU duas vezes por dia, mostraram um aumento significativo (ANOVA não paramétrica de sentido único) no número de células recém-nascidas (BrdU positivo em comparação com a sham injectada) em regiões altamente neurogênicas, incluindo a zona sub ventricular e o giro dentado no hipocampo (Figura 7 e Figura 8).

### Conclusão

[314] Em resumo, as experiências demonstraram que o cPG, c(PG)3 e cGMeP exibem um efeito proliferativo das células estaminais neurais que aponta para a neugênese.

### **Experiência 9:**

[315] Determinação da regeneração do tecido nervoso danificado com cPG

[316] Foram utilizados para o estudo ratos Wistar 10 do dia pós-natal 4 Wistar. Os ratos foram divididos em 2 grupos: um grupo de 5 animais tratados com solução de droga, e o outro grupo de 5 animais tratados com solução 0,9% de cloreto de sódio (soro fisiológico).

[317] Uma solução medicamentosa contendo cPG (de Bachem, solução 10 mM preparada em solução 0,9% de cloreto de sódio (salina)) foi administrada quatro vezes por dia em volumes de 0,75 ml para inundar completamente o local da lesão.

[318] Dois dias após o esmagamento da medula espinal, a dura-máter de um rato foi aberta e um tubo de polietileno foi suturado às espinhas vertebrais e tecidos moles adjacentes, de modo a que a abertura numa das extremidades ficasse directamente sobre a parte lesada da medula espinal. O tubo foi trazido por um túnel subcutâneo de modo a que a sua outra extremidade emergisse na base do crânio. Um adaptador de seringa foi ligado à abertura externa para injectar os fármacos. Todas as experiências foram em dupla ocultação em 2 grupos: um grupo de 5 animais tratados com solução de fármacos de 10 mM cPG em solução salina, e o outro grupo de 5 animais tratados com solução de cloreto de sódio (salina) a 0,9%.

[319] O tratamento de cada animal foi continuado durante 14 dias, após os quais os animais foram mortos e as secções histológicas preparadas.

### Resultados

[320] Os animais tratados com droga mostraram maior invasão da lesão pelas fibras nervosas do que o veículo tratado com soro fisiológico. Nos animais tratados com fármacos, as fibras nervosas cresceram no local da lesão em tal profusão que já não estavam orientadas longitudinalmente, mas cresceram de forma bastante aleatória em todas as direcções. As fibras eram frequentemente onduladas e varicosas e estavam frequentemente dispostas em pequenos feixes contendo 3-6 axónios. Os axónios eram muito finos em calibres, sendo a maioria deles de 3-7 microns de diâmetro. Quando as lâminas eram codificadas e aleatorizadas, não havia dificuldade em distinguir entre os espécimes dos animais tratados com medicamentos e os animais tratados com soro fisiológico. O crescimento nervoso mais prolífico ocorreu nos animais tratados com cPG.

### Conclusão

[321] Este Exemplo mostrou que a regeneração nervosa é promovida através do banho completo ou do contacto com o local da lesão com a composição anterior. A composição anterior promove a regeneração do tecido nervoso danificado quando administrado directamente no local da lesão.

### Experiência 10:

[322] Regeneração do tecido nervoso danificado do cóccico (glicilprolilglicilprolilglicilprolil)

[323] Foram utilizados para o estudo ratos Wistar 10 do dia pós-natal 4 Wistar. Os ratos foram divididos em 2 grupos: um grupo de 5 animais tratados com solução de droga, e o outro grupo de 5 animais tratados com solução 0,9% de cloreto de sódio (soro fisiológico).

[324] Uma solução medicamentosa contendo 10 mM de solução cóccica (glicilprolilglicilprolilglicilprol) ou c(PG)3, obtida de NeuroBiomed, San Jose, Califórnia.

[325] Solução 10 mM preparada em solução 0,9% de cloreto de sódio (salina) foi administrada quatro vezes por dia em volumes de 0,75 ml para inundar completamente o local da lesão.

[326] Dois dias após o esmagamento da medula espinal, a dura-máter de um rato foi aberta e um tubo de polietileno foi suturado às espinhas vertebrais e tecidos moles adjacentes, de modo a que a abertura numa das extremidades ficasse directamente sobre a parte lesada da medula espinal. O tubo foi trazido por um túnel subcutâneo de modo a que a sua outra extremidade emergisse na base do crânio. Um adaptador de seringa foi ligado à abertura externa para injectar os fármacos. Todas as experiências foram em dupla ocultação em 2 grupos: um grupo de 5 animais tratados com solução de fármacos de 10 mM c(PG)3 em solução salina, e o outro grupo de 5 animais tratados com solução de cloreto de sódio (salina) a 0,9%.

[327] O tratamento de cada animal foi continuado durante 14 dias, após os quais os animais foram mortos e as secções histológicas preparadas.

### Resultados

[328] Os resultados são semelhantes aos da experiência acima referida com o cPG. Nos animais tratados com c(PG), as fibras nervosas cresceram até ao local da lesão em tal profusão que já não estavam orientadas longitudinalmente, mas cresceram de forma bastante aleatória em todas as direcções. As fibras eram frequentemente onduladas e varicosas e estavam frequentemente dispostas em pequenos feixes contendo 3-6 axónios.

[329] Os axónios eram muito finos em calibre, sendo a maioria deles de 3-7 microns de diâmetro.

[330] Quando as lâminas eram codificadas e aleatorizadas, não havia dificuldade em distinguir entre os espécimes dos animais tratados com medicamentos e os animais tratados com soro fisiológico. O crescimento nervoso mais prolífico ocorreu nos animais tratados com c(PG)3.

[331] A regeneração nervosa é promovida através do banho completo do local da lesão com a composição anterior. A composição acima referida promove a regeneração do tecido nervoso danificado quando administrado ao local da lesão, incluindo a administração directa ao local da lesão.

**Experiência 11:**

[332] Regeneração do tecido nervoso danificado de Glycyl-2-Methyl Proline cíclico

[333] Foram utilizados para o estudo ratos Wistar 10 do dia pós-natal 4 Wistar. Os ratos foram divididos em 2 grupos: um grupo de 5 animais tratados com solução de droga, e o outro grupo de 5 animais tratados com solução 0,9% de cloreto de sódio (soro fisiológico).

[334] Uma solução medicamentosa contendo 10 mM de Glycyl-2-Methyl Proline, ou cGMeP (de NeuroBiomed, solução 10 mM preparada em solução 0,9% de cloreto de sódio (salina)) foi administrada quatro vezes por dia em volumes de 0,75 ml para inundar completamente o local da lesão.

[335] Dois dias após o esmagamento da medula espinal, a dura-máter de um rato foi aberta e um tubo de polietileno foi suturado às espinhas vertebrais e tecidos moles adjacentes, de modo a que a abertura numa das extremidades ficasse directamente sobre a parte lesada da medula espinal. O tubo foi trazido por um túnel subcutâneo de modo a que a sua outra extremidade emergisse na base do crânio. Um adaptador de seringa foi ligado à abertura externa para injectar os fármacos. Todas as experiências foram em dupla ocultação em 2 grupos: um grupo de 5 animais tratados com solução de fármacos de 10 mM cGMeP em solução salina, e o outro grupo de 5 animais tratados com solução de cloreto de sódio (salina) a 0,9%.

[336] O tratamento de cada animal foi continuado durante 14 dias, após os quais os animais foram mortos e as secções histológicas preparadas.

**Resultados**

[337] Os resultados são semelhantes aos da experiência acima referida com o cPG. Nos animais tratados com cGMeP, as fibras nervosas cresceram até ao local da lesão em tal profusão que já não estavam orientadas longitudinalmente, mas cresceram de forma bastante aleatória em todas as direcções. As fibras eram frequentemente onduladas e varicosas e estavam frequentemente dispostas em pequenos feixes contendo 3-6 axónios.

[338] Os axónios eram muito finos em calibre, sendo a maioria deles de 3-7 microns de diâmetro.

[339] Quando as lâminas eram codificadas e aleatorizadas, não havia dificuldade em distinguir entre os espécimes dos animais tratados com medicamentos e os animais tratados com soro fisiológico. O crescimento nervoso mais prolífico ocorreu nos animais tratados com cGMeP.

[340] A regeneração nervosa é promovida pelo contacto, tal como mas limitado ao banho do local da lesão com a composição anterior. A composição acima referida promove a regeneração do tecido nervoso danificado quando administrado directamente no local da lesão.

### **Experiência 12:**

[341] Ensaio Clínico em Pacientes com Alzheimer com Deficiência Cognitiva Ligeira.

[342] A deficiência cognitiva ligeira (Mild Cognitive Impairment "MCI") é uma síndrome definida como um declínio cognitivo maior do que o esperado para a idade e nível de educação de um indivíduo. As deficiências cognitivas ligeiras são aquelas que envolvem deficiências da memória e outras funções de cognição, para além da norma etária mas que não conduzem à característica da demência.

[343] A deficiência cognitiva ligeira nos estudos populacionais varia entre 3% e 15% em adultos com mais de 65 anos de idade. Mais de metade do progresso das pessoas com ICM progride para a demência no prazo de 5 anos.

[344] A detecção de perturbações cognitivas ligeiras é importante, porque o tratamento pode ter a maior eficácia nesta fase do que após o desenvolvimento da demência.

### **Materiais e Métodos**

[345] Foi realizado um ensaio clínico aleatório de NA-831 (também conhecido como Prolyl Glycine cíclico) em doentes de Alzheimer com ligeira deficiência cognitiva de origem vascular. O medicamento NA-831 foi administrado por via oral com uma cápsula de 10 mg uma vez por dia durante um período de 12 semanas. Participaram no estudo 32 pacientes com Alzheimer.

[346] Critérios de incluso:

- É masculino ou feminino, aos 55-85 anos de idade (inclusive) no rastreio;

- Reclamação de memória auto-relatada, corroborada pelo cônjuge ou companheiro, conforme o caso;
- Escala de Memória Wechsler III (WMS-III) escore de Memória Lógica II ajustado à idade  $\leq$  5;
- Exame de Estado Mini-Mental (MMSE)  $\geq$ 2;
- Classificação do Centro de Estudos Epidemiológicos-Depressão (CES-D)  $<$ 27;
- Função tiroideia normal, definida como TSH, T3 e T4 dentro dos limites normais;
- Concordar em não consumir bebidas alcoólicas no prazo de 8 horas após cada visita de estudo;
- Desejar e poder assinar o consentimento informado e completar o CTB e todos os outros testes e os procedimentos indicados no protocolo;
- As sujeitos do sexo feminino devem ser cirurgicamente estéreis ou pós-menopausa durante pelo menos 2 anos. Se  $<$ 2 anos pós-menopausa, então deve ser obtida uma hormona folicular estimulante (FSH)  $\geq$ 40 mIU/mL.

[347] Crítérios de Exclusão:

- Sujeitos que tenham qualquer doença psiquiátrica significativa, não tratada ou qualquer condição CNS (como esquizofrenia, doença de Parkinson, AVC, etc.) que possa interferir com as avaliações ou procedimentos do estudo ou que represente um risco adicional;
- Os sujeitos com um historial de depressão não complicada podem participar se remissão e numa dose estável de medicamentos antidepressivos durante pelo menos 2 meses;
- Histórico de traumatismo craniano significativo seguido de falhas neurológicas persistentes ou anomalias estruturais cerebrais conhecidas;
- Teve um AVC ou Ataque Isquémico Transitório (AIT) ou perda de consciência inexplicável nos últimos 1 ano;
- História de angina instável, enfarte do miocárdio, insuficiência cardíaca crónica ou anomalias de condução clinicamente significativas no período de 1 ano antes da visita de rastreio 1;
- História de abuso ou dependência do álcool ou de substâncias no ano passado;

- Sinusite infecciosa aguda;
- Histórico ou presença de uma anormalidade das estruturas externas ou internas do nariz ou nasofaringe, excepto para correcção cirúrgica do septo nasal ou "nariz partido" há pelo menos 2 anos, ou reparação cirúrgica do palato fendido quando <30 anos de idade;
- Utilização de medicamentos que se sabe causarem a obtundação franca de cognição;
- Utilização de qualquer medicamento aprovado ou de investigação para a doença de Alzheimer no prazo de 3 meses após o rastreio;
- Histórico ou actual de doença sistémica significativa julgada como interferindo com as avaliações do estudo ou susceptível de constituir uma preocupação de segurança;
- Apneia do sono não tratada ou tratamento da apneia do sono durante <3 meses;
- Doença sistémica clinicamente significativa ou infecção grave nos 30 dias anteriores ou durante o período de rastreio;
- Utilização de medicamentos permitidos para condições crónicas em doses que não tenham sido estáveis durante pelo menos 4 semanas antes da Visita de Rastreio 1, ou utilização de medicamentos AD em doses que não tenham sido estáveis durante pelo menos 8 semanas antes da Visita de Rastreio 1;
- Resultados de testes laboratoriais clínicos anormais, especificamente: Alanina transaminase (ALT) ou aspartato transaminase (AST) >2 x o limite superior do normal (ULN), Hematologia <80% o limite inferior do normal, Creatinina  $\geq 2$  mg/dL e outros valores laboratoriais clínicos ou sinais vitais considerados clinicamente significativos na opinião do Investigador;
- Tratamento com qualquer fármaco de investigação, biológico, ou dispositivo nos 30 dias anteriores ao rastreio;
- Cirurgia que envolva anestesia geral nos últimos 3 meses ou cirurgia planeada que exija anestesia geral durante o período de estudo;
- Contra-indicações para os procedimentos de estudo;
- Utilização de quaisquer medicamentos que, na opinião do Investigador, possam contribuir para a deficiência cognitiva, colocar os participantes em maior risco de eventos adversos

(EA), ou prejudicar a capacidade do participante para realizar testes cognitivos ou completar procedimentos de estudo.

[348] Avaliação:

- 1) Uma escala que avalia a gravidade dos sintomas baseada na Avaliação Unificada das Acções Clínico-farmacológicas dos Agentes Psicotrópicos em Pacientes com Doenças Orgânicas, que fornece dados quantitativos objectivos sobre a dinâmica terapêutica da sintomatologia psicopatológica e as características das acções psicotrópicas dos agentes;
- 2) O Mini Exame de Estado Mental (MMSE), que consiste numa bateria de testes neuropsicológicos que avaliam as funções cognitivas em pontos: atenção, memória, gnose, fala, práxis, e contagem;
- 3) A Breve Escala de Classificação Cognitiva (BCRS), que fornece uma avaliação das gravidades dos componentes individuais das deficiências cognitivas;
- 4) O Exame de Rastreio de Capacidade Cognitiva (CCSE), que consiste numa bateria de testes de avaliação das funções cognitivas: orientação, memória, contagem, e as capacidades de inferir e de agrupar objectos;
- 5) A escala Clinical Global Impression, que fornece avaliações quantitativas da eficácia terapêutica dos agentes, juntamente com a tolerância e segurança, utilizando investigações de medidas de gravidade da doença, o nível de "melhoria global", o efeito terapêutico, e a presença e gravidade dos efeitos secundários durante o tratamento;
- 6) Análises laboratoriais que consistem em análises gerais de sangue e urina, incluindo investigações bioquímicas (AST, ALT);
- 7) Vestígios de ECG.

Resultados

[349] O estado mental dos pacientes com ligeira deficiência cognitiva, tal como, mas não limitado à origem vascular, foi definido pela avaliação incluindo o Mini Exame de Estado Mental (MMSE), a Escala de Classificação Cognitiva Breve (BCRS), o Exame de Rastreio da Capacidade Cognitiva (CCSE).

[350] As acções terapêuticas de NA-831 nos pacientes incluem diminuições em sintomatologia semelhante à neurose e distúrbios cognitivos.

Os resultados são apresentados no Quadro 2:

#### QUADRO 2:

[351] Dados de Medição de Perturbações Cognitivas Suaves:

Nota: W é o teste assinado por Wilcoxon, que é o teste não-paramétrico equivalente ao teste t dependente. É utilizado para comparar dois conjuntos de resultados que provêm dos mesmos participantes. Isto pode ocorrer quando desejamos investigar qualquer alteração nas pontuações de um ponto temporal para outro, ou quando os indivíduos são sujeitos a mais do que uma condição.

[352] Os médicos utilizam um teste assinado por Wilcoxon para compreender se houve uma diferença nas condições do paciente em termos de fadiga antes e depois de um período de tempo com o tratamento medicamentoso.

Comprometimento Cognitivo Leve - Medição Clínica														
Measurement	Linha de base - dia 7		Linha de base - dia 14		Linha de base - dia 21		Linha de base - dia 1		Linha de base - dia 1		Linha de base - dia 1		Linha de base - dia 1	
	W	p	W	p	W	p	W	p	W	p	W	p	W	p
Aumento da fadiga	17	>0.05	95	0.02	97	0.02	137	0.01	155	0.01	159	0.001	162	0.001
Ansiedade	22	>0.05	22	>0.05	46	0.02	70	0.02	107	0.01	110	0.001	115	0.001
Humor diminuído	3	>0.05	12	>0.05	22	0.03	23	0.03	23	0.03	23	0.03	24	0.03
Indiferença de apatia	19	0.05	41	0.02	57	0.02	59	0.02	61	0.02	65	0.02	67	0.02
Aumento da irritabilidade	38	0.02	47	0.02	68	0.01	93	0.01	109	0.01	110	0.01	117	0.001
Labilidade afetiva	23	0.03	58	0.02	69	0.01	118	0.01	139	0.01	140	0.001	142	0.001
Perturbação do sono	37	0.03	47	0.02	70	0.02	70	0.02	82	0.02	82	0.01	82	0.01
Perturbação ao acordar	21	>0.05	29	0.02	41	0.02	47	0.02	69	0.02	92	0.001	95	0.001
Sonolência diurna	19	>0.05	45	0.02	52	0.02	67	0.01	76	0.01	109	0.001	117	0.001
Dor de cabeça	28	0.02	49	0.02	98	0.01	101	0.01	120	0.01	121	0.001	129	0.001
Deficiência ortostática	18	>0.05	37	0.02	58	0.02	78	0.01	67	0.02	78	0.02	81	0.02
Taquicardia	29	0.02	28	0.02	35	0.02	45	0.02	53	0.02	67	0.01	69	0.01
Hiperestesia	11	>0.05	21	0.03	33	0.04	67	0.01	69	0.01	78	0.01	83	0.01
Suando	12	>0.05	23	>0.05	37	0.02	66	0.01	67	0.01	67	0.01	69	0.01
comprometimento do sono noturno	37	0.02	57	0.02	91	0.02	93	0.01	104	0.01	113	0.01	118	0.001

[353] Note-se que NA-831 demonstrou melhorar significativamente as seguintes funções com o  $p < 0,01$ :

- Reduzir a fadiga
- Reduzir a ansiedade
- Reduzir a irritabilidade

- Melhorar a capacidade
- Reduzir a perturbação ao acordar durante a noite
- Reduzir a sonolência durante o dia
- Melhorar a duração do sono nocturno

[354] A análise das eficácias terapêuticas de NA-831 foi realizada em todos os pacientes do ensaio utilizando os métodos de avaliação, incluindo: o Mini Exame do Estado Mental (MMSE), a Escala de Classificação Cognitiva Breve (BCRS), e o Exame de Rastreio da Capacidade Cognitiva (CCSE).

[355] Os dados clínicos sobre a eficácia da NA-831 nas patentes de Alzheimer podem ser resumidos e destacados da seguinte forma:

[356] NA-831 foi encontrado para melhorar a capacidade de concentração e contagem do paciente.

[357] No gráfico, a Medida da Breve Escala de Classificação Cognitiva foi traçada contra o tempo, os dados estatísticos após o dia 42 ao dia 84, com um valor de p inferior a 0,01. Isto significa que têm impactos significativamente positivos na melhoria da concentração e da capacidade de contagem dos pacientes. Ver, Figura 9.

[358] É um sintoma comum que a memória a curto prazo dos pacientes de Alzheimer se torna progressivamente pior. NA-831 não só melhora a memória a curto prazo, mas também a memória a longo prazo. Ver, Figura 10.

[359] Além disso, a memória a longo prazo dos doentes de Alzheimer torna-se progressivamente pior. NA-831 não só melhora a memória a curto prazo, mas também a memória a longo prazo. Ver, Figura 11.

[360] Nas fases iniciais da doença, os doentes de Alzheimer tornam-se frequentemente desorientados, mesmo na sua própria casa. NA-831 melhora a orientação e restabelece a sua noção de tempo e lugar. Ver, Figura 12.

[361] À medida que a doença progride, os doentes de Alzheimer não conseguem cuidar de si próprios. O medicamento melhora a capacidade do doente de cuidar da sua actividade diária e autocuidado. Ver, Figura 13.

[362] O Mini-Mental State Examination (MMSE) é um questionário de 30 pontos que é amplamente utilizado em contextos clínicos e de investigação para medir o défice cognitivo.

[363] O impacto de NA-831 na emoção dos pacientes foi demonstrado com uma melhoria significativa no MMSE de uma média de 23,5 (deficiência ligeira) no dia 1 para 29,75 (normal) no dia 84. Ver, Figura

[364] Constatou-se que NA-831 teve uma elevada eficácia no tratamento de pacientes com ligeira deficiência cognitiva com uma melhoria acentuada em 92,5% de todos os pacientes, e pouca melhoria em 7,5% dos pacientes. Ver, Figura 15.

### Conclusões

[365] O Prolyl Glycine cíclico diminuiu ou preveniu a neurotoxicidade induzida pelo glutamato, indicando que a droga é neuroprotectora e pode ser utilizada para inibir a degeneração neuronal ou a morte celular.

### Experiência 13:

[366] Ensaio para estudar a relação dos receptores do tipo cPG e NR2B em animais após administração intravenosa.

[367] Nesta experiência, foram administrados por via intravenosa ratos CD-1 machos com 8-10 semanas (n=12) num veículo constituído por 10% de dimetilacetamida, 40% de PEG-400, 30% de betaciclodextrina hidroxipropil, e 30% de água com Prolyl Glycine cíclico (0,10 mg/ml), e os abdominais foram colhidos 15 minutos após a dose por decapitação. As amostras de cérebro foram imediatamente congeladas e armazenadas a -80°C.

[368] No dia seguinte, as amostras de cérebro doseadas foram descongeladas em gelo durante 20-30 minutos, seguidos de homogeneização com Polytron durante 10 segundos em tampão de homogeneização a frio composto de 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH ajustado a 7,4 com KOH), 1 mM EDTA, 0,005% Triton X 100 e cocktail de inibidores de protease (Fischer Scientific). Os homogeneizados em bruto foram ainda mais homogeneizados utilizando um

homogeneizador Dounce (Thomas Scientific) e as alíquotas de membrana homogeneizadas de todos os animais foram congeladas e armazenadas a -80 C até nova utilização. Todo o processo de homogeneização foi realizado em gelo.

[369] Para determinar a ocupação, os homogeneizados de membrana foram descongelados no gelo e depois homogeneizados com uma agulha de calibre 25. A membrana homogeneizada (6,4 mg/ml) foi adicionada a uma placa de 96 poços, seguida da adição de 3H Ro 25-6981 (6 nM). A mistura de reacção foi incubada durante 5 minutos num agitador a 4C e depois colhida em placas de alteração GF/B (tratada com 0,5% PEI durante 1 hora à temperatura ambiente). As placas de alteração foram secas a 50C durante 30 minutos, incubadas com microcintilação 20 durante 15 minutos e lidas por um contador de cintilação e luminescência de bancada (TopCount Model NXT fabricado por Perkin Elmer). Cada dose ou grupo composto consistia em 4 animais. O grupo de controlo de animais foi doseado apenas com veículo. Membrana de cada animal foi adicionada em triplicados à placa de ensaio. A ligação não específica foi determinada utilizando 10 µM Ro 25-6981 adicionado aos poços contendo homogeneizados de membrana de animais doseados em veículos.

[370] As contagens específicas/minuto foram convertidas em % de ocupação em cada dose de um composto para cada animal usando a seguinte equação:

$$\% \text{ De ocupação (animal A)} = \frac{\text{CPM específico do animal A}}{\text{CPM específico do grupo de controlo}} \times 100$$

[371] Usando este procedimento, o composto cPG mostrou 93% de ocupação do receptor NR2B após uma dose i.v. de 3 mg/Kg. Os níveis de drogas foram determinados pelo método da espectroscopia de massa. Os níveis de droga no plasma sanguíneo eram de 1074 nM nesta dose, e os níveis de droga no tecido cerebral homogeneizado eram de 1632 nM.

[372] Os resultados indicam que o cPG ocupa receptores do tipo NR2B residentes no cérebro em animais após administração intravenosa e que o composto e os seus análogos são farmacologicamente eficazes.

**Experiência 14: T**

[373] Experimento 14: Teste de natação forçada de camundongo (mFST).

[374] O teste de natação forçada (FST) é um modelo animal utilizado para avaliar compostos antidepressivos em estudos pré-clínicos. O FST foi realizado de forma semelhante ao método de Porsolt et al. com modificações (Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Desespero comportamental em camundongos: um teste de rastreo primário para antidepressivos. Arch Int Pharmacodyn Thér 1977; 229:327-36).

[375] Nesta experiência, os camundongos são forçados a nadar num cilindro inescapável cheio de água. Nestas condições, os camundongos tentarão inicialmente escapar e eventualmente desenvolver um comportamento de imobilidade; este comportamento é interpretado como uma estratégia passiva de stress-coping ou comportamento semelhante à depressão. Os tanques de natação foram posicionados dentro de uma caixa feita de plástico. Cada tanque foi separado uns dos outros por folhas de plástico opacas até à altura dos cilindros. Três camundongos foram submetidos a testes de cada vez. As sessões de natação foram conduzidas durante 6 minutos, colocando camundongos em cilindros individuais de vidro (46 cm de altura × 20 cm de diâmetro) contendo água (20 cm de profundidade, mantida a 24-25° C.). A este nível de água, a cauda camundongos do não toca no fundo do recipiente. O camundongo foi considerado imóvel sempre que permaneceu a flutuar passivamente sem se debater na água e apenas fazendo os movimentos necessários para manter o seu nariz/cabeça acima da água e para o manter a flutuar. A duração da imobilidade foi avaliada durante os 6 min totais do teste e expressa como duração (seg) da imobilidade. Cada camundongos foi testado apenas uma vez. No final de cada sessão, os camundongos eram secos com um pano seco e devolvidos à sua gaiola doméstica colocados sobre um cobertor térmico para evitar a hipotermia. A água foi substituída após cada ensaio.

[376] Os resultados obtidos na FST foram mostrados como uma média aritmética do tempo de imobilidade dos animais (dada em segundos) ± erro padrão da média (SEM) para cada grupo experimental.

[377] A fim de evitar o risco de obter os falsos efeitos positivos/negativos na FST causados por uma possível influência dos fármacos testados na actividade locomotora, a actividade locomotora espontânea foi medida utilizando um medidor de actividade animal Opto-Varimex-4 Auto-Track (Columbus Instruments, EUA). O dispositivo consiste em quatro gaiolas transparentes com uma tampa (43 x 43x 32 cm), um conjunto de quatro emissores infravermelhos (cada emissor tem 16 feixes laser), e quatro detectores que monitorizam os movimentos dos animais. Cada camundongo foi colocado individualmente na gaiola durante 10 minutos. A actividade locomotora espontânea foi avaliada entre o 2º e o 6º min, o que corresponde ao intervalo de tempo analisado no FST.

[378] Além disso, todas as sessões de teste foram gravadas com uma câmara de vídeo (Sony Handicam, Modelo: DCR-HC38E; PAL) e a pontuação foi feita utilizando o software Forced Swim Scan, Versão 2.0 (Clever Systems Inc., Reston, Va., EUA; ver Hayashi E, Shimamura M, Kuratani K, Kinoshita M, Hara H. Sistema experimental automatizado que captura três componentes comportamentais durante o teste de natação forçada murina. *Life Sci.* 2011 Fev. 28; 88(9-10):411-7 e Yuan P, Tragon T, Xia M, Leclair C A, Skoumbourdis A P, Zheng W, Thomas C J, Huang R, Austin C P, Chen G, Guitart X. Os inibidores da fosfodiesterase 4 aumentam a actividade sexual de procura de prazer em roedores. *Pharmacol Biochem Behav.* 2011; 98(3):349-55).

[379] Cyclic Prolyl Glycine (na concentração 0,10 mg/ml) foi administrado em 12 camundongos trinta minutos antes da sessão de natação por via i.v. e o tempo de imobilidade foi registado durante os 6 min seguintes. No final da FST, o camundongo foi eutanizado por método de decapitação rápida e amostras de plasma e cérebro foram recolhidas e armazenadas sob -80° C. até análise posterior. No ensaio de natação forçada do camundongo, o composto cPG foi doseado por via intravenosa num veículo de solução salina (0,90% de cloreto de sódio) a um volume de dosagem de 5 mL/Kg. O composto demonstrou uma diminuição estatisticamente significativa do tempo de imobilidade a 1 mg/Kg sob estas condições. Os níveis de droga foram 237 +/-128 nM no plasma e 632 +/-173 nM no cérebro a esta dose. A ocupação do receptor NR2B foi determinada como acima

referido e foi determinada como sendo de 73%. O análogo cPG demonstrou uma diminuição estatisticamente significativa do tempo de imobilidade a 1 mg/Kg nestas mesmas condições.

[380] Os níveis de droga eram de 215 nM no plasma. A ocupação do receptor NR2B foi determinada como sendo de 68%.

[381] Os resultados indicam que os compostos cíclicos de Prolyl Glycine (NA-831) exibem propriedades antidepressivas.

### **Experiência 15:**

[382] Estudo clínico: Um estudo de referência activo duplo-cego, aleatório, controlado por placebo, de Prolyl Glycine Cíclico (NA-831) em doentes com doença depressiva grave.

#### Introdução

[383] O Prolyl Glycine cíclico (NA-831) é um composto novo em desenvolvimento como antidepressivo. Com base em dados pré-clínicos, estas afinidades são consideradas de relevância clínica e envolvidas no mecanismo de acção em doses terapêuticas. In vivo, NA-831 aumenta os níveis extracelulares de serotonina (5-HT), noradrenalina, dopamina, acetilcolina e histamina no córtex pré-frontal do rato e hipocampo.

[384] O objectivo deste estudo clínico era investigar a eficácia, segurança e tolerabilidade de duas doses fixas (20 e 40 mg/d) de NA-831 vs. a de placebo após 6 semanas de tratamento em pacientes adultos com doença depressiva grave (MDD). A Venlafaxina XR foi utilizada como referência activa.

#### Método

[385] Este estudo randomizado, duplo-cego, em dose fixa, controlado por placebo e de referência activa recrutou 32 pacientes randomizados de acordo com os princípios das Boas Práticas Clínicas [ICH (1996)]. Harmonized Tripartite Guideline E6: Guideline for Good Clinical Practice (<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm073122.pdf>) e a Declaração de Helsínquia [WMA (1964)]. Princípios Éticos para a Investigação Médica Envolvendo Sujeitos Humanos (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>). Associação Médica Mundial]. Os

comités de ética locais aprovaram a concepção do estudo e os doentes elegíveis deram o seu consentimento informado por escrito antes de participarem.

[386] Os doentes elegíveis foram randomizados igualmente (1:1:1:1) para um dos quatro braços de tratamento durante um período de tratamento duplo-cego de 6 semanas. Os pacientes aleatorizados receberam cartões de carteira de 1 semana em cada visita e foram instruídos a tomar duas cápsulas por dia, oralmente, à mesma hora todos os dias (de preferência de manhã). NA-831 foi doseado a 20 mg/dia ou 40 mg/d durante 6 semanas e venlafaxina a 75 mg/d durante o período de tratamento de 6 semanas. A eficácia e tolerabilidade foram avaliadas no rastreio, na linha de base e após 1, 2, 3, 4, 5, e 6 semanas.

[387] Os doentes foram contactados para um acompanhamento de segurança 4 semanas após a visita de conclusão.

#### Principais critérios de entrada

[388] Foram incluídos no estudo pacientes com MDD que apresentavam um episódio depressivo importante actual de acordo com os critérios do DSM-IV-TR se fossem um paciente de ambos os sexos, com idades compreendidas entre os 20 e os 65 anos, (média= 39,7 ± 8,5) (com uma escala de classificação de depressão Montgomery-Åsberg (MADRS) (Montgomery & Åsberg, 1979) pontuação total  $\geq 30$  na visita de base. [Montgomery S Åsberg M (1979). Uma nova escala de depressão concebida para ser sensível à mudança. British Journal of Psychiatry 134, 382-389. <https://doi.org/10.1192/bjp.134.4.382>]

[389] Os pacientes foram excluídos se tivessem alguma perturbação psiquiátrica actual que não a MDD, tal como definida no Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition (DSM-IV-TR), avaliada utilizando a Mini Entrevista Neuropsíquica Internacional [Sheehan DV Lecrubier Y Sheenan KH Amorim P et al. (1998)]. A Mini-entrevista Neuropsíquica Internacional (M.I.N.I.). Journal of Clinical Psychiatry 59 (Suppl. 20), 22-33, quiz 34-57] ou se tinham uma história actual ou passada de episódio maníaco ou hipomaníaco, esquizofrenia ou qualquer outra perturbação psicótica, incluindo depressão grave com características psicóticas, atraso mental, perturbações mentais orgânicas, ou perturbações mentais devido a uma condição médica geral, qualquer perturbação de abuso

de substâncias nos 6 meses anteriores, presença ou história de uma perturbação neurológica clinicamente significativa (incluindo epilepsia), qualquer perturbação neurodegenerativa, ou qualquer perturbação do Eixo II que possa comprometer o estudo.

[390] Foram também excluídas as pacientes em risco grave de suicídio, com base no juízo clínico do investigador, ou que tinham uma pontuação de  $\geq 5$  no item 10 da escala MADRS (pensamentos suicidas), bem como as que recebiam terapia comportamental formal ou psicoterapia sistemática, ou que estavam grávidas ou a amamentar, tinham uma hipersensibilidade conhecida ou não respondiam à venlafaxina, ou cujos sintomas depressivos actuais foram considerados pelo investigador como tendo sido resistentes a dois tratamentos antidepressivos adequados de pelo menos 6 semanas de duração, ou tinham sido previamente expostos a NA-831.

[391] Os pacientes também foram excluídos se estivessem a tomar os seguintes medicamentos psicotrópicos dentro de 2 semanas antes da linha de base ou durante o estudo: Inibidores de monoamina oxidase reversíveis ou irreversíveis, SSRIs (fluoxetina no prazo de 5 semanas), SNRIs, antidepressivos tricíclicos, remédios fitoterápicos psicoactivos, qualquer droga usada para aumentar a acção antidepressiva ou qualquer outra droga antidepressiva, antipsicóticos orais e anti-maníacos, ou formigas dopaminérgicas, quaisquer ansiolíticos (incluindo benzodiazepinas); e qualquer medicamento anticonvulsivo, serotoninérgicos, analgésicos narcóticos ou agentes para a tosse, antiarrítmicos, anticoagulantes orais, inibidores da bomba de prótons, esteróides, cisapride, antibióticos macrolídeos, agentes antifúngicos, anti-hipertensivos, todos os agentes anti-inflamatórios, agentes anti-migrina, pseudoefedrina, hipolipidemias, e uso episódico de insulina. O uso ocasional de zolpidem, zopiclone e zaleplon para insónia foi permitido.

[392] Os doentes foram retirados se engravidaram durante o estudo, se o investigador considerou ser do melhor interesse do doente por razões de segurança/eficácia, se os valores laboratoriais estavam fora dos intervalos normais e clinicamente significativos, se foram considerados em risco significativo de suicídio, se marcaram  $\geq 5$  pontos no item 10

(pensamentos suicidas) do MADRS, se o código de randomização de um doente foi quebrado, se o consentimento para participar foi retirado, se não tomaram a medicação do estudo durante mais de 6 dias consecutivos, ou se o doente foi perdido para acompanhamento. O paciente poderia ser retirado do estudo se ocorresse um acontecimento adverso grave (SAE). Se os eventos adversos (EAs) contribuíssem para a retirada, eram sempre considerados como a principal razão para a retirada.

#### Classificação da eficácia

[393] Os pacientes foram avaliados utilizando o MADRS desde a linha de base até à semana 6. A formação dos médicos foi realizada para aumentar a fiabilidade entre os médicos, e foi supervisionada por um investigador experiente. Apenas os investigadores que tinham participado activamente em sessões de formação de avaliadores antes da inclusão de doentes no estudo foram autorizados a classificar os doentes. As classificações dos pacientes eram avaliadas pelo mesmo investigador em cada visita, sempre que possível.

#### Atribuição ao tratamento

[394] A medicação foi dada em cápsulas de aparência idêntica. Os pacientes que preenchiam os critérios de selecção na visita de base foram atribuídos a tratamento duplo-cego de acordo com uma lista de aleatorização gerada por computador. Os detalhes da série de aleatorização eram desconhecidos de qualquer um dos investigadores e estavam contidos num conjunto de envelopes opacos selados. Em cada local de estudo, aos pacientes inscritos sequencialmente foi atribuído o menor número de aleatorização disponível em blocos de quatro. Todos os investigadores, pessoal do estudo e participantes foram cegos para a atribuição de tratamentos durante todo o estudo.

#### Conjuntos de análise

[395] Todas as análises de segurança foram baseadas no conjunto tratado por todos os pacientes (APTS), compreendendo todos os pacientes aleatorizados que tomaram pelo menos uma dose de medicação de estudo. Todas as análises de eficácia foram baseadas num conjunto modificado de intenção de tratamento (ITT) - o conjunto de análise completa

(FAS), compreendendo todos os pacientes do APTS que tinham pelo menos uma avaliação de pontuação total MADRS pós-base válida.

#### Análise de eficácia primária

[396] Quatro hipóteses fizeram parte da análise de eficácia primária, que foi totalmente ajustada para a multiplicidade utilizando um procedimento de teste hierárquico ao nível de 5% de significância, desde que a hipótese anterior fosse rejeitada. A ordem dos testes foi: nenhuma diferença entre a dose de 20 mg vs. placebo na semana 6, nenhuma diferença entre 40 mg vs. placebo na semana 6, nenhuma diferença entre 20 mg dose vs. placebo na semana 1, e finalmente nenhuma diferença entre 40 mg dose vs. placebo na semana 1. O modelo estatístico foi uma análise da covariância (ANCOVA) da alteração da linha de base na pontuação total MADRS (FAS, LOCF) com tratamento e local como factores fixos e a pontuação da linha de base MADRS como covariante. A análise de eficácia primária foi repetida em casos observados (OC), utilizando tanto uma ANCOVA como um modelo misto para medições repetidas (MMRM).

#### Avaliações de tolerabilidade

[397] Todos os efeitos adversos (EA) (incluindo qualquer alteração em doenças simultâneas ou novas doenças) observados pelo investigador ou notificados espontaneamente pelo paciente foram registados. As EC foram codificadas utilizando o termo de nível mais baixo, de acordo com o Dicionário Médico para Actividades Regulatórias, versão 10.0. Como análise post-hoc, a base de dados de segurança foi pesquisada ao nível de termo preferido e literalmente para possíveis EC relacionadas com o suicídio, tal como descrito pela FDA [Laughren T (2006)]. Memorando sobre a Suicidalidade. (<http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/06/briefing/2006-4272b1-01-fda.pdf>).

#### Resultados

##### Características básicas do paciente

[398] O APTS compreendia 32 pacientes (placebo, 8; venlafaxina, 8; 20 mg NA-831, 8; 40 mg NA-831,8). Não houve diferenças clinicamente relevantes ou estatisticamente significativas entre os grupos de tratamento em termos demográficos ou características

clínicas dos doentes na linha de base (Tabela 3). Os doentes tinham uma idade média ( $\pm$ S.D.) de  $39,7 \pm 8,5$  anos, 59,4% eram mulheres. A pontuação média do MADRS da linha de base foi de 34,0, indicando uma população de doentes gravemente deprimida, consistente com a pontuação média do CGI-S de 5,1. Os doentes foram diagnosticados com a sua primeira MDE  $\sim 10$  yr antes da matrícula. Entre 74% e 80% dos doentes de cada grupo de tratamento tinham tido uma MDE anterior e o seu episódio actual tinha começado cerca de 5 meses antes da inscrição.

[399] QUADRO 3: Características do paciente de base

	Placebo (n=8)	NA-831	NA-831	Venlafaxine
		20 mg (n=8)	40 mg (n=8)	225 mg (n=8)
Mulheres	5 (62.5%)	5 (62.5 %)	5 (50.0 %)	5 (62.5 %)
Idade (yr)				
Média $\pm$ SD	$40.0 \pm 10.7$	$41.3 \pm 8.9$	$39.6 \pm 10.4$	$38.0 \pm 10.3$
Gama	21–61	21–62	19–60	20–63
Pacientes com first MDE	21.50%	22.50%	23.00%	22.50%
Anos desde first MDE $\pm$ SD.	$10 \pm 4$	$10 \pm 3$	$9 \pm 3$	$11 \pm 9$
Dias desde o início da actual MDE $\pm$ SD	$165 \pm 34$	$161 \pm 39$	$163 \pm 35$	$160 \pm 47$
Efficacy pontuações	(n=105)	(n=108)	(n=100)	(n=112)
Pontuação total MADRS $\pm$ SD	$33.4 \pm 2.7$	$34.1 \pm 2.6$	$34.0 \pm 2.8$	$33.2 \pm 3.1$

[400] Com base no conjunto completo de análise: CGI-S, Clinical Global Impression - Severity; MADRS: Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale;

MDE: maior episódio depressivo;

S.D.: desvio padrão.

#### Retiradas do estudo

[401] Apenas 4 sujeitos se retiraram por várias razões: um do grupo placebo, um do grupo 40 mg NA-831 e dois do grupo Venlafaxine. Mais de 87% dos pacientes completaram o estudo.

#### Eficácia

[402] No parâmetro de eficácia primária pré-definido, ambas doses de NA-831 foram estatisticamente significativamente ( $p < 0,0001$ ) superiores ao placebo em mudança média da linha de base na pontuação total de MADRS na semana 6 (FAS, LOCF), com diferenças médias de tratamento para placebo de 7,7 (20 mg) e 8,5 (40 mg) pontos (Quadro 4) numa análise controlada por multiplicidade. Venlafaxina foi também estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ) superior ao placebo na semana 6, com uma diferença média de tratamento para placebo de 7,2 pontos (LOCF). As diferenças de tratamento estimadas e os valores nominais de  $p$  na semana 6 obtidos a partir de uma análise utilizando MMRM foram semelhantes aos obtidos nas análises ANCOVA 5,7 $\pm$ 1,3 (20 mg NA-831), 7,8 $\pm$ 1,3 (40 mg NA-831), 5,6 $\pm$ 1,3 (venlafaxina), todos  $p < 0,0001$ ]. (Quadro 2).

[403] TABELA 4: Resumo da Análise de Eficácia

Análise	Grupo de tratamento	Média SD	Diferença com Placebo	valor p
LOCF,	Placebo ( $n=7$ )	-14.7 $\pm$ 1.0	–	–
ANCOVA	NA-831 20 mg ( $n=8$ )	-22.4 $\pm$ 1.0	-7.7 $\pm$ 1.4	<0.0001
	NA-831 40 mg ( $n=7$ )	-23.2 $\pm$ 1.0	-8.5 $\pm$ 1.4	<0.0001

	Venlafaxine (n=6)	-21.9 ± 1.0	-7.2 ± 1.4	<0.0001
OC,	Placebo (n=7)	-16.6 ± 1.0	–	–
ANCOVA	NA-831 20 mg (n=8)	-22.3 ± 0.9	-5.7 ± 1.3	<0.0001
	NA-831 40 mg (n=7)	-24.4 ± 1.0	-7.8 ± 1.3	<0.0001
	Venlafaxine (n=6)	-22.2 ± 0.9	-5.6 ± 1.3	<0.0001
MMRM	Placebo (n=7)	-15.4 ± 1.0	–	–
	NA-831 20 mg (n=8)	-22.3 ± 0.9	-6.9 ± 1.3	<0.0001
	NA-831 40 mg (n=7)	-24.9 ± 1.1	-9.5 ± 1.4	<0.0001
	Venlafaxine (n=6)	-23.5 ± 0.9	-8.1 ± 1.3	<0.0001

FAS: Conjunto de análise completa;

LOCF: última observação levada avante;

MADRS: Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale;

MMRM: modelo misto, medidas repetidas;

OC: casos observados;

S.E., erro padrão da média.

#### Tolerabilidade e segurança

[404] Durante o período de tratamento de 6 semanas, aproximadamente 60% dos pacientes do grupo placebo e 75% dos grupos venlafaxina tinham uma ou mais EA. Apenas 12,5% dos grupos de 20 mg NA-831 e 12,5% dos doentes dos 40 mg NA-83 tinham EA.

[405] Um total de 10 (33,3%) pacientes retiraram devido às EA: 1 (10%) no grupo placebo, sem retirada do grupo 20 mg NA-831, 1 (12,5%) no grupo 20 mg NA-831, e 2 (25%) no grupo venlafaxina.

[406] As EAs mais comuns relatadas nos grupos de tratamento activo NA-831 foram dor de cabeça ligeira e boca seca. A maioria dos doentes do grupo da venlafaxina relatou náuseas, perda grave de força, visão turva, dores no peito, batimentos cardíacos rápidos ou irregulares e pensamentos suicidas.

#### Conclusão

[407] O objectivo do estudo duplo-cego, randomizado e controlado por placebo era avaliar a eficácia, segurança e tolerabilidade de NA-831 em doentes com MDD. A referência activa, venlafaxina XR foi incluída com o objectivo de validar a metodologia do estudo e a população de doentes, e foi eficaz na análise da eficácia primária. Ambas doses de NA-831 resultaram numa melhoria significativa em relação ao placebo na análise da eficácia primária.

[408] A diferença entre tratamento activo e placebo de ~7 pontos no MADRS traduz-se numa diferença clinicamente relevante nas taxas de resposta de 32,5% unidades, em comparação com uma média de 16% de unidades de antidepressivos aprovados pelas autoridades europeias [Melander H Salmonson T Abadie E van Zwieten-Boot B (2008)].

[409] Uma apologia regulamentar - Uma revisão dos estudos controlados por placebo nas apresentações regulamentares de antidepressivos de nova geração. *European Neuropsychopharmacology* 18, 623-627. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2008.06.003>

[410] Em conclusão, o tratamento com NA-831 durante 6 semanas neste estudo foi bem tolerado e eficaz na redução de sintomas depressivos e ansiosos em doentes com MDD.

[411] A presente invenção é descrita com referência a encarnações específicas da mesma.

[412] Outras características e encarnações desta invenção podem ser produzidas por pessoas competentes na arte sem experimentação indevida e com uma probabilidade razoável de sucesso. Todas essas e outras encarnações são consideradas como fazendo parte desta invenção.

#### Vantagens da presente invenção

[413] Algumas vantagens oferecidas pela presente invenção com os peptídeos cíclicos, especialmente sobre o IGF-I incluem:

[414] Os ingredientes activos são fáceis de sintetizar quer in vitro quer por outros meios, tais como técnicas recombinantes.

[415] O peptídeo como uma pequena molécula pode difundir-se facilmente através do corpo e entre compartimentos (por exemplo, a barreira hemato-encefálica, e as membranas mucosas), ajudando na escolha de métodos para a sua administração e na sua capacidade de alcançar locais onde ocorreram lesões.

[416] cPG, c(PG)3 e cGMeP são moléculas muito estáveis e é pouco provável que apresentem um desafio ao sistema imunitário, pelo que podem ser administradas durante períodos prolongados e podem ser administradas profilacticamente.

[417] A presente invenção fornece um novo método terapêutico para prevenir lesões cerebrais e doenças degenerativas, regulando os mGluRs particularmente 2/3 levando a benefícios a longo prazo da recuperação cerebral.

[418] Com um papel na regulação da indução do IGF-1, o cPG proporcionará mais neuroprotecção com menos potencial de efeitos secundários de crescimento.

#### Conclusões

[419] O Prolyl Glycine cíclico diminuiu ou preveniu a neurotoxicidade induzida pelo glutamato, indicando que a droga é neuroprotectora e pode ser utilizada para inibir a degeneração neuronal ou a morte celular.

[420] A presente invenção é descrita com referência a encarnações específicas da mesma.

[421] Outras características e encarnações desta invenção podem ser produzidas por pessoas competentes na arte sem experimentação indevida e com uma probabilidade razoável de sucesso. Todas essas e outras encarnações são consideradas como fazendo parte desta invenção.

[422] Embora várias encarnações da presente invenção tenham sido descritas acima, deve entender-se que foram apresentadas apenas a título de exemplo, e não de limitação. Será entendido por aqueles que são peritos na arte que várias alterações na forma e nos detalhes podem ser feitas sem se afastar do espírito e do âmbito da presente invenção, tal como definido nas reivindicações anexas. Assim, a amplitude e o alcance da presente invenção

não devem ser limitados por nenhuma das encarnações exemplares acima descritas, mas devem ser definidos de acordo com as seguintes reivindicações e seus equivalentes.

[423] Todas as publicações, incluindo documentos de patentes e artigos científicos, referidas no presente pedido, incluindo qualquer bibliografia, são incorporadas por referência na sua totalidade para todos os fins, na mesma medida como se cada publicação individual fosse incorporada individualmente por referência. Todos os títulos são para a conveniência do leitor e não devem ser usados para limitar o significado do texto que segue o título, a menos que especificado de outra forma.

## REIVINDICAÇÕES

1. Método de regeneração de neurônios e perda de células da glia como resultado de um insulto de uma lesão ou doença, **caracterizado pelo fato de que** compreende as etapas de:

a) fornecer um sujeito com necessidade dos referidos neurônios em regeneração e perda de células da glia; e

b) administrar ao referido sujeito Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, em uma quantidade eficaz para regenerar novos neurônios e glia;

em que os referidos neurônios são regenerados e a referida perda de células da glia é regenerada no referido sujeito;

ainda em que o referido composto de cPG serve como um agente de neurogênese no sistema nervoso central; e

adicionalmente, em que os referidos neurônios e perda de células da glia como resultado de um insulto de uma lesão ou doença são regenerados.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo fato de que** a referida administração é na forma de uma composição farmacêutica incluindo um veículo farmacêuticamente aceitável.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo fato de que** a referida quantidade eficaz de composto de cPG é de cerca de 1µg a cerca de 100 mg por kg de peso corporal.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo fato de que** a referida administração é em combinação com fluido cérebro-espinhal artificial.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo fato de que** a referida administração é intravenosa.

6. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo fato de que** a referida administração é combinada com um agente neuroprotetor, fator de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I), ou fator de crescimento semelhante à insulina II (IGF-II).

7. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo fato de que** a referida administração é combinada com um agente anti-inflamatório, reagentes da subunidade alfa 4 anti-integrina.

8. Método para reparar neurônios danificados e perda de células da glia como resultado de um insulto de uma lesão ou doença, **caracterizado pelo fato de que** compreende a etapa de:

a) fornecer um sujeito com necessidade dos referidos neurônios em regeneração e perda de células da glia; e

b) administrar ao referido sujeito Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG) , coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, em uma quantidade eficaz para regenerar novos neurônios e glia;

em que os referidos neurônios são regenerados e a referida perda de células da glia é regenerada no referido sujeito; em que o referido composto de cPG serve como um agente de neuroresgate no sistema nervoso central e ainda em que os referidos neurônios danificados e perda de células da glia como resultado de um insulto de uma lesão ou doença são reparados.

9. Método, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado pelo fato de que** Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil- cíclico Prolina (cPMeG), coletivamente chamada de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, é de cerca de 1µg a cerca de 100 mg por kg de peso corporal.

10. Método, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado pelo fato de que** a referida administração está na forma de uma composição farmacêutica, incluindo seu veículo farmacologicamente aceitável.

11. Método, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado pelo fato de que** a referida administração é em combinação com fluido cérebro-espinhal artificial.

12. Método, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado pelo fato de que** a referida administração é combinada com um agente neuroprotetor, fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) ou fator de crescimento semelhante à insulina II (IGF-II).

13. Método, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado pelo fato de que** a referida administração é combinada com um agente anti-inflamatório.

14. Método para atenuar ou aliviar o comprometimento cognitivo causado por uma doença, lesão ou condição em um mamífero com necessidade do mesmo, **caracterizado pelo fato de que** compreende:

a) fornecer um mamífero com necessidade de atenuar ou aliviar a deficiência cognitiva causada por uma doença, lesão ou condição;

b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil Prolina cíclica ( cPMeG), coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, para o referido mamífero;

em que a referida doença é selecionada a partir do grupo que consiste em doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência e demência de múltiplos enfartes, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical;

ainda em que a referida lesão é selecionada a partir do grupo que consiste em lesão neurotóxica, hipóxia/isquemia cerebral, lesão cerebral traumática, cirurgia de revascularização do miocárdio, onde a referida condição é envelhecimento normal, perda de memória relacionada à idade, prejuízo de memória, hipofunção colinérgica, estreitamento vascular ou bloqueio no cérebro, neuroinflamação, comprometimento cognitivo leve, atrofia cerebral, degeneração lobar frontotemporal, doença de Pick, infecção por HIV, síndrome de Down e perda de plasticidade sináptica;

ainda em que o referido mamífero é para a atenuação ou alívio do comprometimento cognitivo causado por uma doença, lesão ou condição, incluindo doença de Alzheimer,

perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

15. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** a referida Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), chamados coletivamente de O composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, compreende uma solução aquosa e um ou mais excipientes, aditivos, veículos ou adjuvantes farmacologicamente aceitáveis.

16. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** a referida Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), chamados coletivamente de um O composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, compreende ainda um ou mais excipientes, transportadores, aditivos, adjuvantes ou ligantes em um comprimido ou cápsula.

17. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** o referido distúrbio é uma deficiência cognitiva leve, doença de Alzheimer, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada com doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

18. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** a referida Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), chamados coletivamente de um O composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, é administrado por via oral, intraperitoneal, intravascular, circulação periférica, subcutânea, intraorbital, oftálmica, intraespinhal, intracisternal, tópica, infusão, implante,

aerossol, inalação, escarificação, intracapsular, intramuscular, intranasal, bucal via de administração, transdérmica, pulmonar, retal, vaginal ou uma combinação dos mesmos.

19. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** a referida quantidade farmacologicamente eficaz tem um limite inferior de cerca de 0,001 miligramas por quilograma de massa (mg / kg) do referido mamífero e um limite superior de cerca de 100 mg / kg do referido mamífero.

20. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** o referido comprometimento cognitivo é causado por hipofunção colinérgica.

21. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** a referida hipofunção colinérgica é causada por escopolamina.

22. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** a referida deficiência cognitiva é causada por uma diminuição nos receptores de glutamato na camada de células granulares (CA1) do hipocampo do referido mamífero.

23. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** a referida Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), chamados coletivamente de um O composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, causa um aumento nos receptores AMPA na camada de células granulares (CA1) do hipocampo do referido mamífero.

24. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** a referida Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), chamados coletivamente de um O composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, causa um aumento na plasticidade neuronal causada pelo referido composto de cPG nas regiões da camada de células granulares (CA1) e da camada de células piramidal (CA3) do referido hipocampo de mamífero.

25. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** a referida hipóxia/isquemia cerebral é causada por lesão cerebral traumática.

26. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** a referida deficiência cognitiva é causada por demência de múltiplos infartos.

27. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** o referido comprometimento cognitivo é causado por cirurgia de bypass arterial coronariano (CABG).

28. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado pelo fato de que** o referido comprometimento cognitivo é causado pela doença de Alzheimer, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

29. Método para prevenir os sintomas de um comprometimento cognitivo leve causado por ou associado a uma doença, lesão ou condição em um mamífero com necessidade do mesmo, **caracterizado pelo fato de que** compreende:

a) fornecer um mamífero com necessidade de prevenir o comprometimento cognitivo causado por uma doença, lesão ou condição;

b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, para o referido mamífero;

em que a referida doença é selecionada a partir do grupo que consiste em doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência e demência de múltiplos infartos, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

30. Método para tratar os sintomas de um comprometimento cognitivo leve causado por ou associado a uma doença, lesão ou condição em um mamífero com necessidade do mesmo, **caracterizado pelo fato de que** compreende:

a) fornecer um mamífero com necessidade de tratamento de deficiência cognitiva causada por uma doença, lesão ou condição;

b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, para o referido mamífero;

em que a referida doença é selecionada a partir do grupo que consiste em doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência e demência multi-infarto, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração basal cortical.

31. Método para aumentar o crescimento neuronal ou a formação de sinapses em um mamífero causado por ou associado a uma doença, lesão ou condição em um mamífero com necessidade do mesmo, **caracterizado pelo fato de que** compreende:

a) fornecer um mamífero com necessidade de aumentar o crescimento neuronal ou a formação de sinapses;

b) administrar uma quantidade eficaz de uma composição que compreende uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), chamados coletivamente de composto cPG, ou uma combinação dos mesmos, ao referido mamífero;

em que a referida doença é selecionada a partir do grupo que consiste em doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Lewy Body, demência e demência multi-infarte, perda de memória, sintomas de déficit de atenção associados à doença de Alzheimer, neurodegeneração associada à doença de Alzheimer, demência de origem vascular mista, demência de origem degenerativa, demência pré-senil, demência senil, demência associada à doença de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva ou degeneração cortical basal.

32. Método para modular a neurogênese no tecido neural de um paciente exibindo pelo menos um sintoma de um distúrbio do sistema nervoso central que são distúrbios neurodegenerativos, distúrbios isquêmicos, traumas neurológicos, distúrbios de aprendizagem e memória, ou uma combinação dos mesmos, por meio da administração de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), chamados coletivamente de um composto de cPG, ou um combinação dos mesmos, ou seus análogos funcionais ou ativos, variantes, derivados, que têm a mesma, substancialmente a mesma ou função semelhante ao composto de cPG, e combinações dos mesmos, **caracterizado pelo fato de que** o agente modula a neurogênese no paciente, modulando assim a neurogênese no tecido neural do paciente.

33. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado pelo fato de que** o distúrbio do sistema nervoso é doença de Alzheimer, doença de Parkinson e distúrbios parkinsonianos, doença de Huntington, esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, síndrome de Shy-Drager, paralisia supranuclear progressiva, doença de corpos de Lewy, isquemia espinhal, acidente vascular cerebral isquêmico, enfarte cerebral, lesão da medula espinhal e lesão cerebral e medular relacionada ao câncer, demência de múltiplos infartos, demência geriátrica, comprometimento cognitivo leve, depressão e lesão traumática.

34. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado pelo fato de que** a referida neurogênese de modulação é realizada por uma ativação de um receptor GPCR no referido tecido neural.

35. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado pelo fato de que** o agente é administrado em uma quantidade de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Cíclico Glicil-2-Alil Prolina, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, de cerca de 0,1 mg a cerca de 10 mg/kg por dia, de cerca de 0,5 mg a cerca de 20 mg/kg por dia, de cerca de 0,2 mg a cerca de 40 mg/kg por dia, de cerca de 5 mg a cerca de 50 mg/kg por dia, ou de cerca de 10 microgramas a cerca de 100 mg/kg por dia.

36. Método para tratar depressão ou outro distúrbio psicológico em um sujeito, **caracterizado pelo fato de que** compreende:

a) fornecer um sujeito com necessidade de tratamento de depressão ou outros distúrbios psicológicos; e

b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, para o referido sujeito; em que o referido sujeito é tratado para depressão ou outros distúrbios psicológicos.

37. Método, de acordo com a reivindicação 36, **caracterizado pelo fato de que** a referida Prolil Glicina (cPG) cíclica ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil- cíclico Prolina (cPMeG), coletivamente chamada de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, compreende uma solução aquosa e um ou mais excipientes, aditivos, transportadores ou adjuvantes farmacologicamente aceitáveis.

38. Método, de acordo com a reivindicação 36, **caracterizado pelo fato de que** a referida Prolil Glicina (cPG) cíclica ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil- cíclico Prolina (cPMeG), coletivamente chamada de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, compreende ainda um ou mais excipientes, transportadores, aditivos, adjuvantes ou ligantes em um comprimido ou cápsula.

39. Método, de acordo com a reivindicação 36, **caracterizado pelo fato de que** a referida Prolil Glicina (cPG) cíclica ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil- cíclico Prolina (cPMeG), coletivamente chamada de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, é administrada por via oral, intraperitoneal, intravascular, circulação periférica, subcutânea, intraorbital, oftálmica, intraespinhal, intracisternal, tópica, infusão, implante, aerossol, inalação, escarificação, intracapsular, intramuscular, intranasal, bucal via de administração, transdérmica, pulmonar, retal, vaginal ou uma combinação dos mesmos, rota de administração.

40. Método, de acordo com a reivindicação 36, **caracterizado pelo fato de que** a referida quantidade farmacologicamente eficaz tem um limite inferior de cerca de 0,1 miligramas por quilograma de massa (mg/kg) do referido mamífero e um limite superior de cerca de 10 mg/kg do referido mamífero.

41. Método, de acordo com a reivindicação 36, **caracterizado pelo fato de que** a referida quantidade farmacologicamente eficaz está entre cerca de 20 mg e cerca de 80 mg por dia administrados por via oral e pode ser de até 100 mg por dia para alguns casos graves por ordem de prescrição médica.

42. Método para prevenir os sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos em sujeitos com necessidade, **caracterizado pelo fato de que** compreende:

a) fornecer um sujeito com necessidade de prevenir a depressão ou outros distúrbios psicológicos;

b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, para o referido sujeito; em que o referido sujeito é impedido de desenvolver os sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos.

43. Método para tratar os sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos em um sujeito com necessidade, **caracterizado pelo fato de que** compreende:

a) fornecer um sujeito com necessidade de tratamento de depressão ou outros distúrbios psicológicos;

b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, para o referido mamífero; em que o referido sujeito é tratado para os sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos.

44. Método para o tratamento de pacientes com depressão mental, **caracterizado pelo fato de que** compreende:

a) fornecer um sujeito com necessidade de tratamento de depressão ou outros distúrbios psicológicos;

b) administrar a um paciente que sofre de depressão mental uma quantidade farmacologicamente eficaz (tal como, mas não limitada a, de 20 mg a 80 mg por dia) de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil cíclico 2-Alil Prolina, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), coletivamente chamados de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos; em que o referido sujeito é tratado para depressão mental.

45. Método para atenuar ou aliviar os sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos em um sujeito com necessidade, **caracterizado pelo fato de que** compreende:

a) fornecer um sujeito com necessidade de atenuar ou aliviar a depressão ou outros distúrbios psicológicos;

b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, para o referido mamífero; em que o referido sujeito é aliviado para os sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos.

46. Método para intervir ou prevenir a cascata de depressão ou outros distúrbios psicológicos em um sujeito em necessidade, **caracterizado pelo fato de que** compreende:

a) fornecer um sujeito com necessidade de intervenção ou prevenção de depressão ou outros distúrbios psicológicos;

b) administrar uma quantidade farmacologicamente eficaz de Prolil Glicina cíclica (cPG) ou seus análogos (cíclico (tri (Prolil Glicina) ou Glicil-2-Alil Prolina cíclica, ou Glicil-Alquil Prolina cíclica ou Glicil-2-Metil-Prolina cíclica (cPMeG), coletivamente chamado de composto de cPG, ou uma combinação dos mesmos, para o referido mamífero; em que o referido sujeito é prevenido para os sintomas de depressão ou outros distúrbios psicológicos.

Figura 1

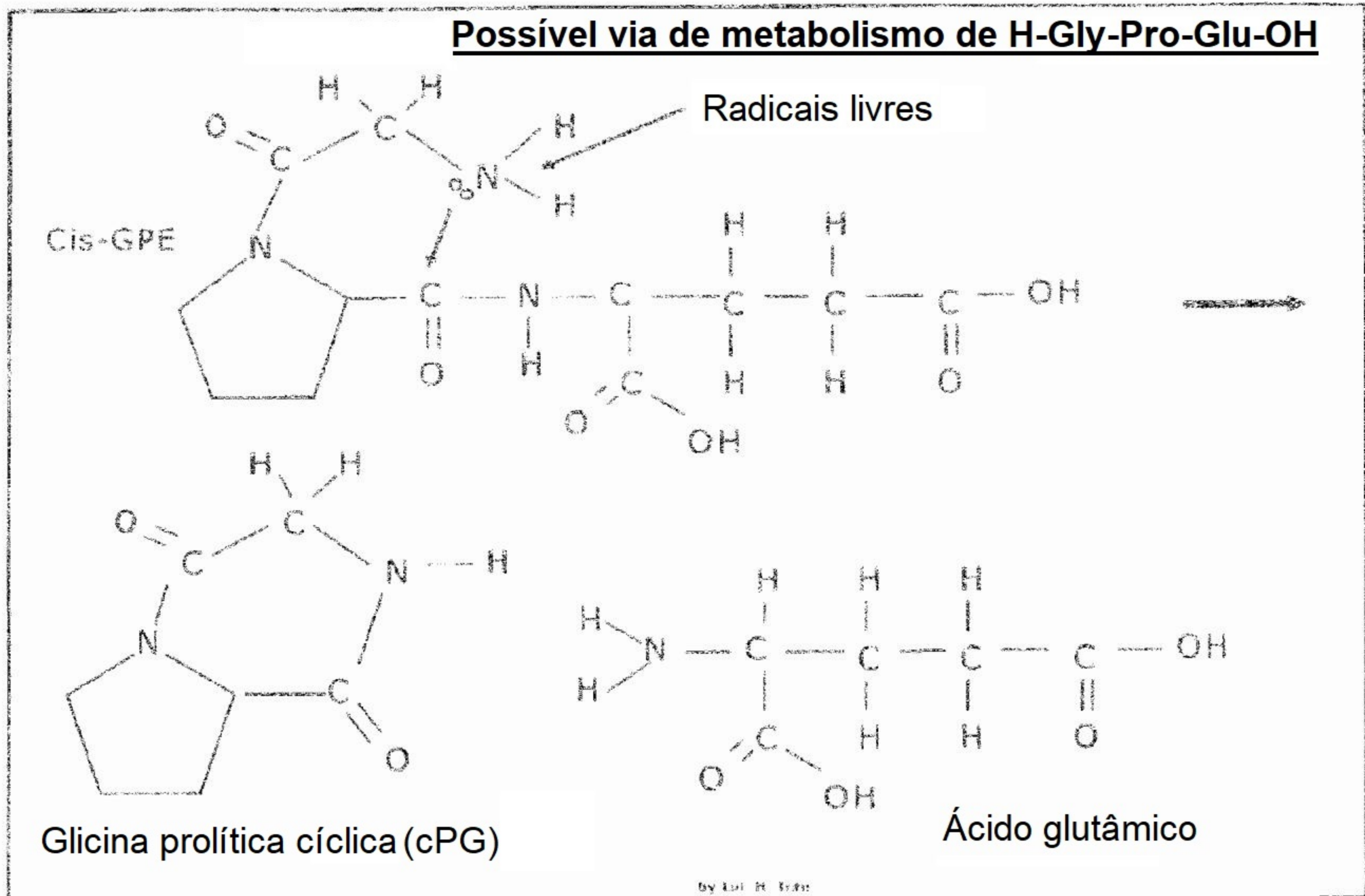


Figura 2

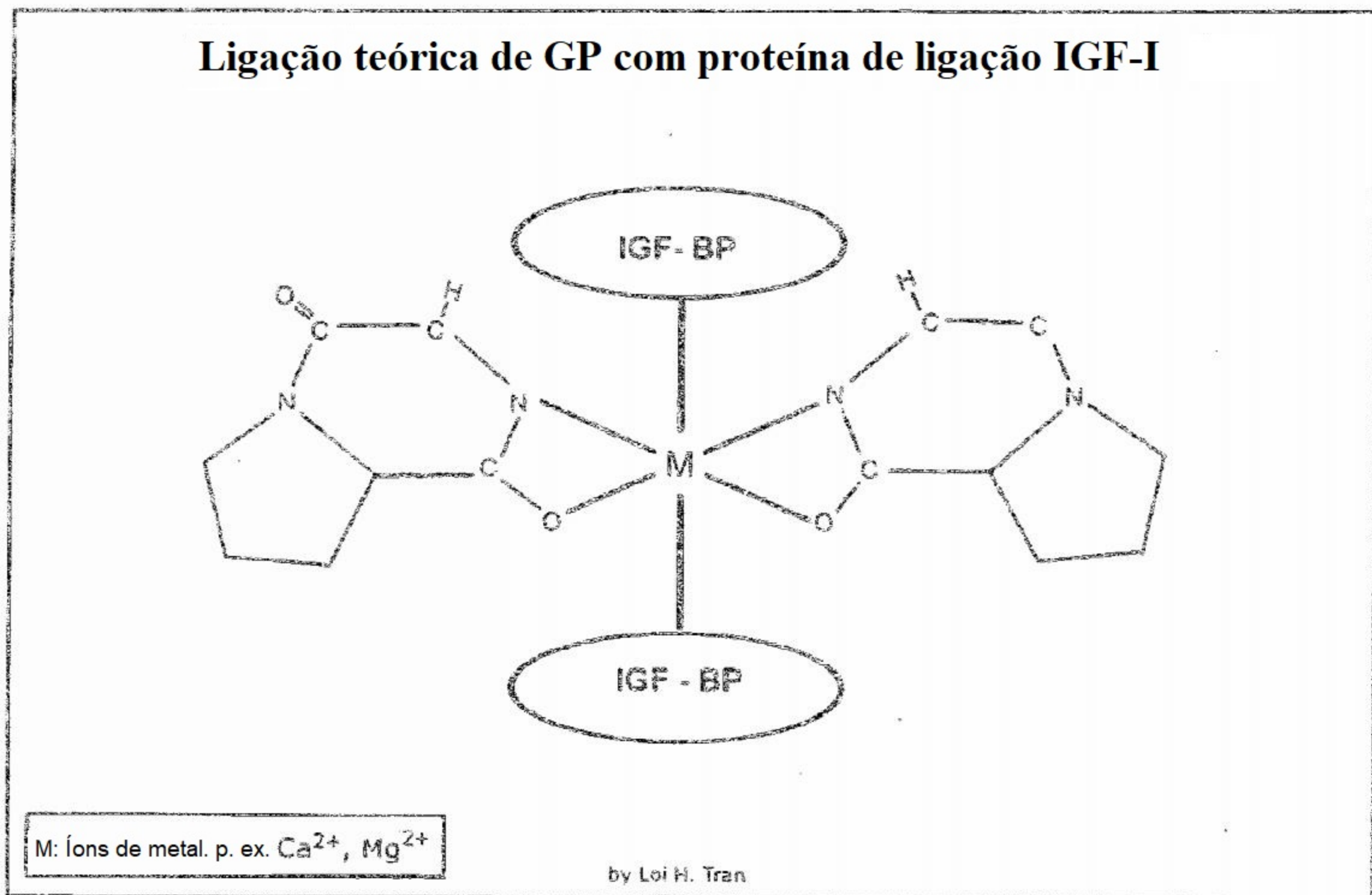
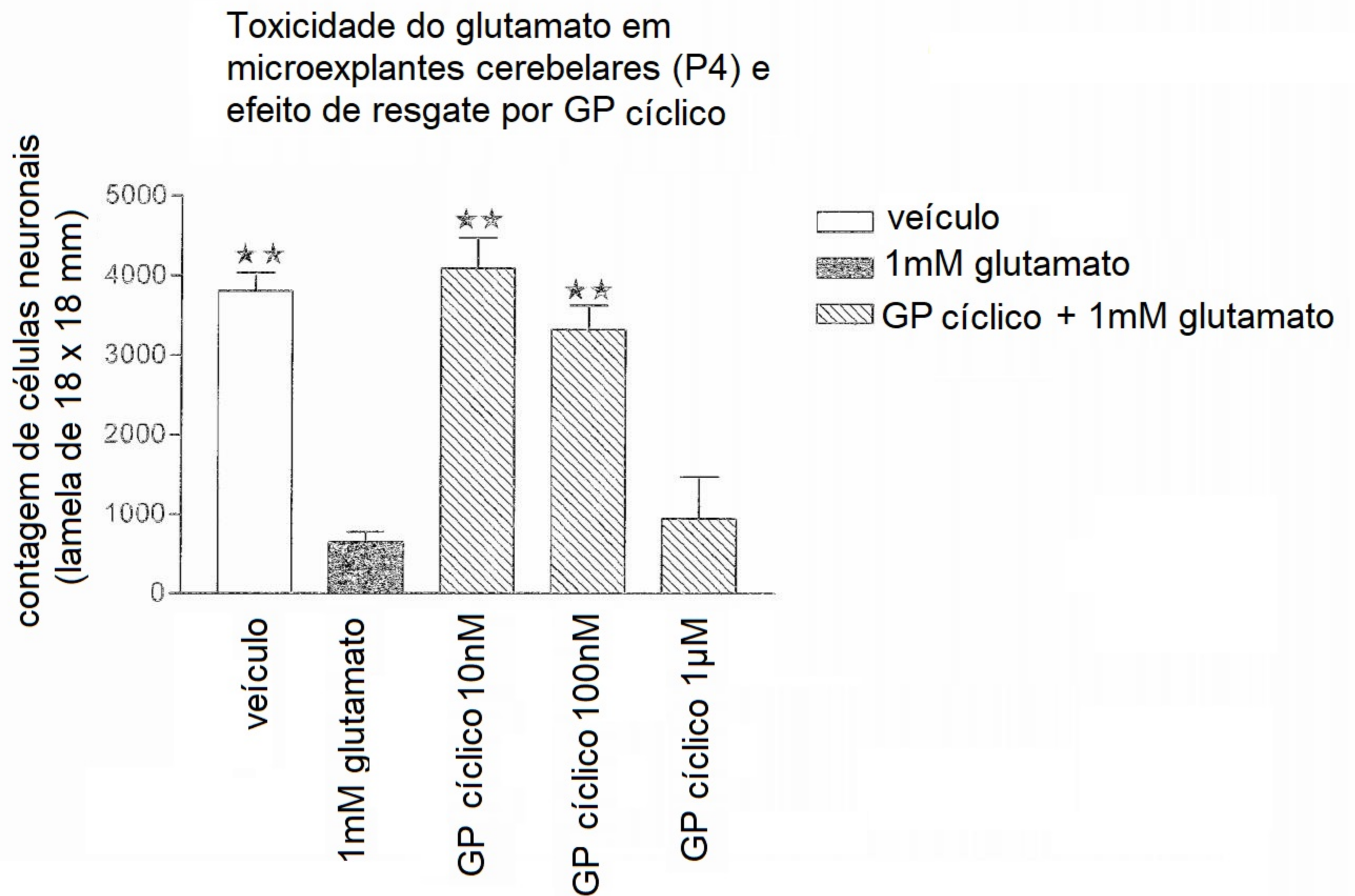


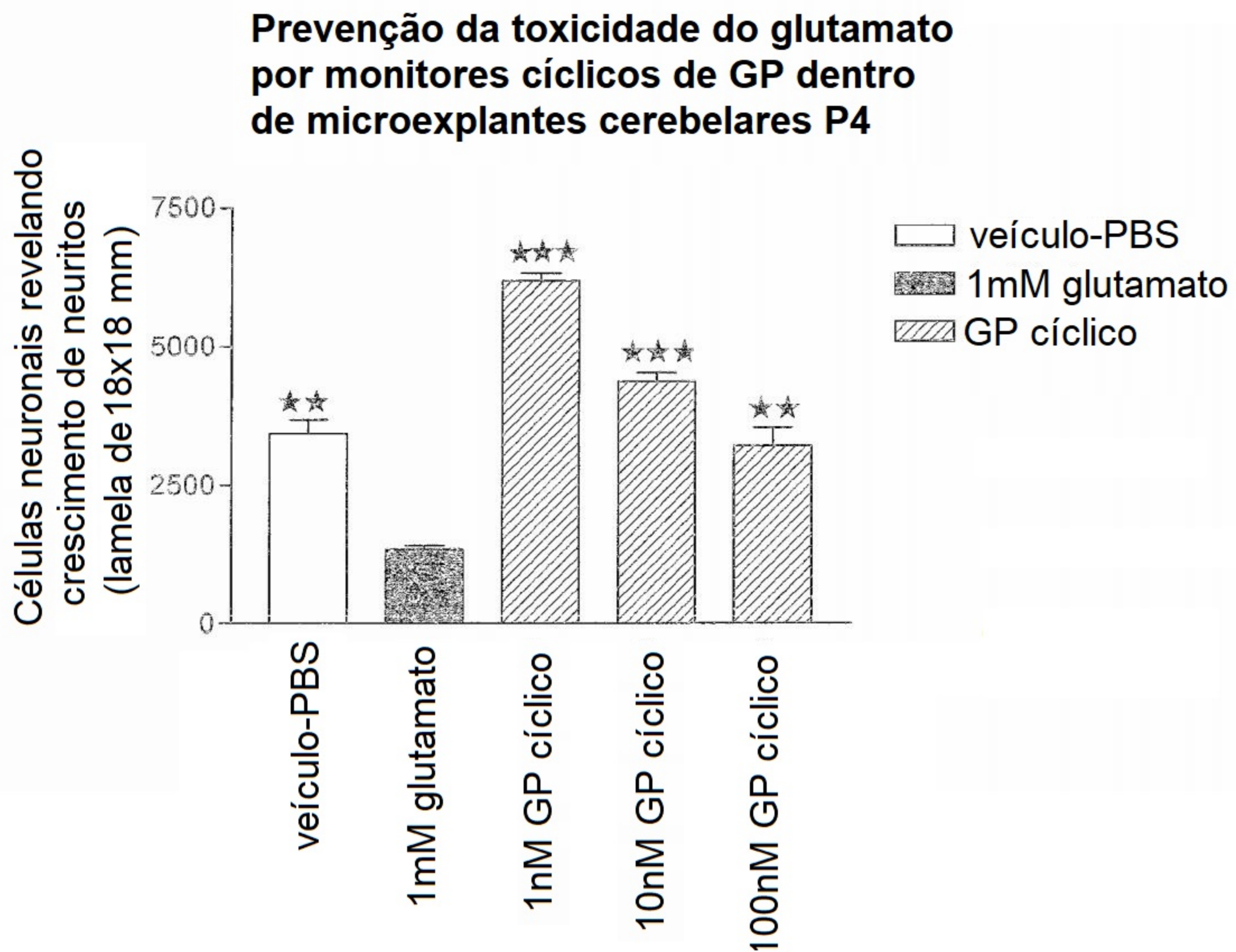
Figura 3



glutamato e GP cíclico foram administrados simultaneamente. As culturas foram fixadas e analisadas após 45 horas

★★  $p < 0.01$  média  $\pm$  valores SEM (N=3) analisados contra tratamento com glutamato de 1mM

Figura 4



As microexplantos cerebellares receberam o GP cíclico com um atraso de 6 horas devido à administração de glutamato. As células foram analisadas após 48 horas.

\*\*\*\*  $p < 0,0001$  todos os dados representam média  $\pm$  SEM (N=4) e são analisados contra o insulto do glutamato de 1mM  
 \*\*  $p < 0.01$

Figura 5

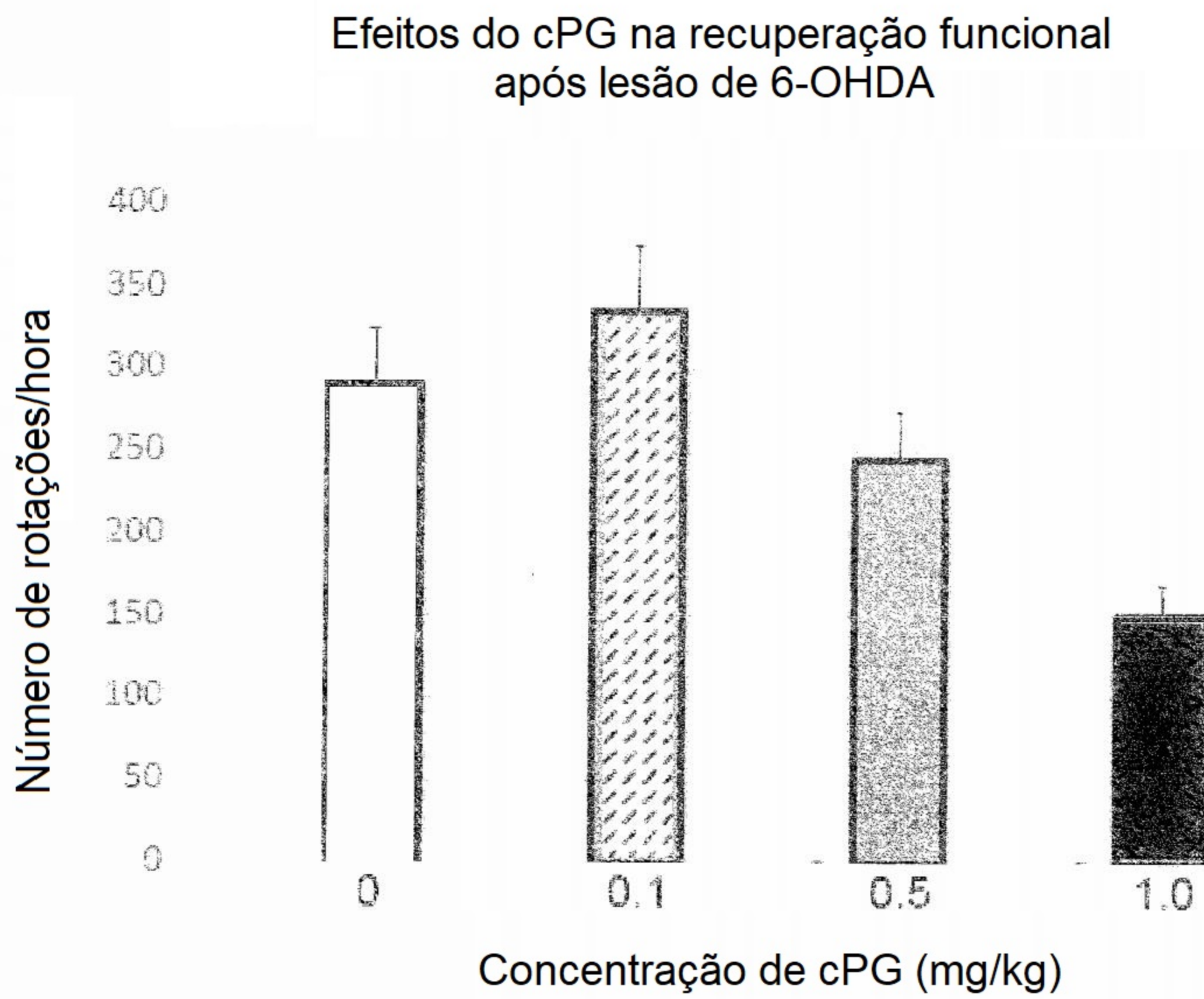
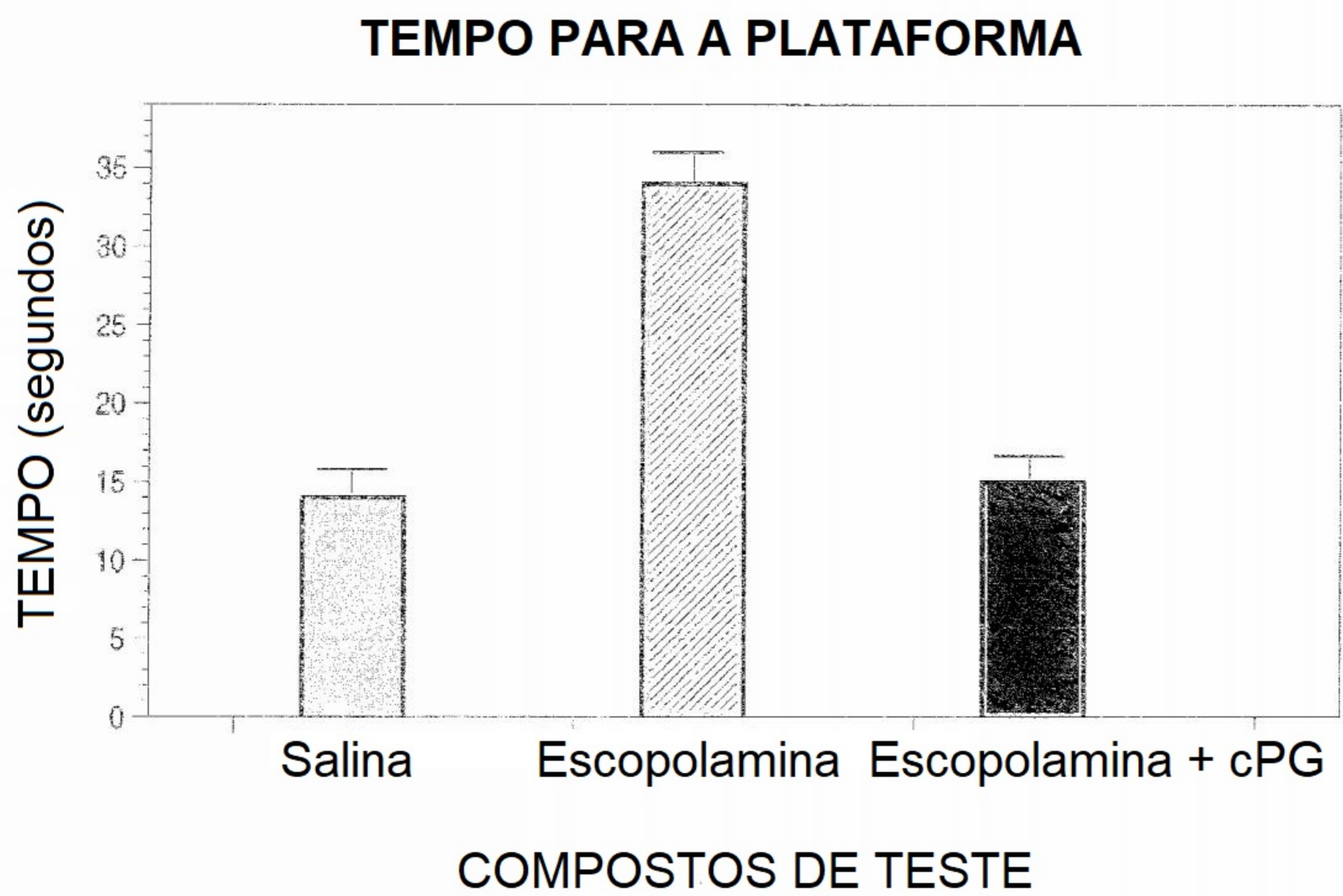


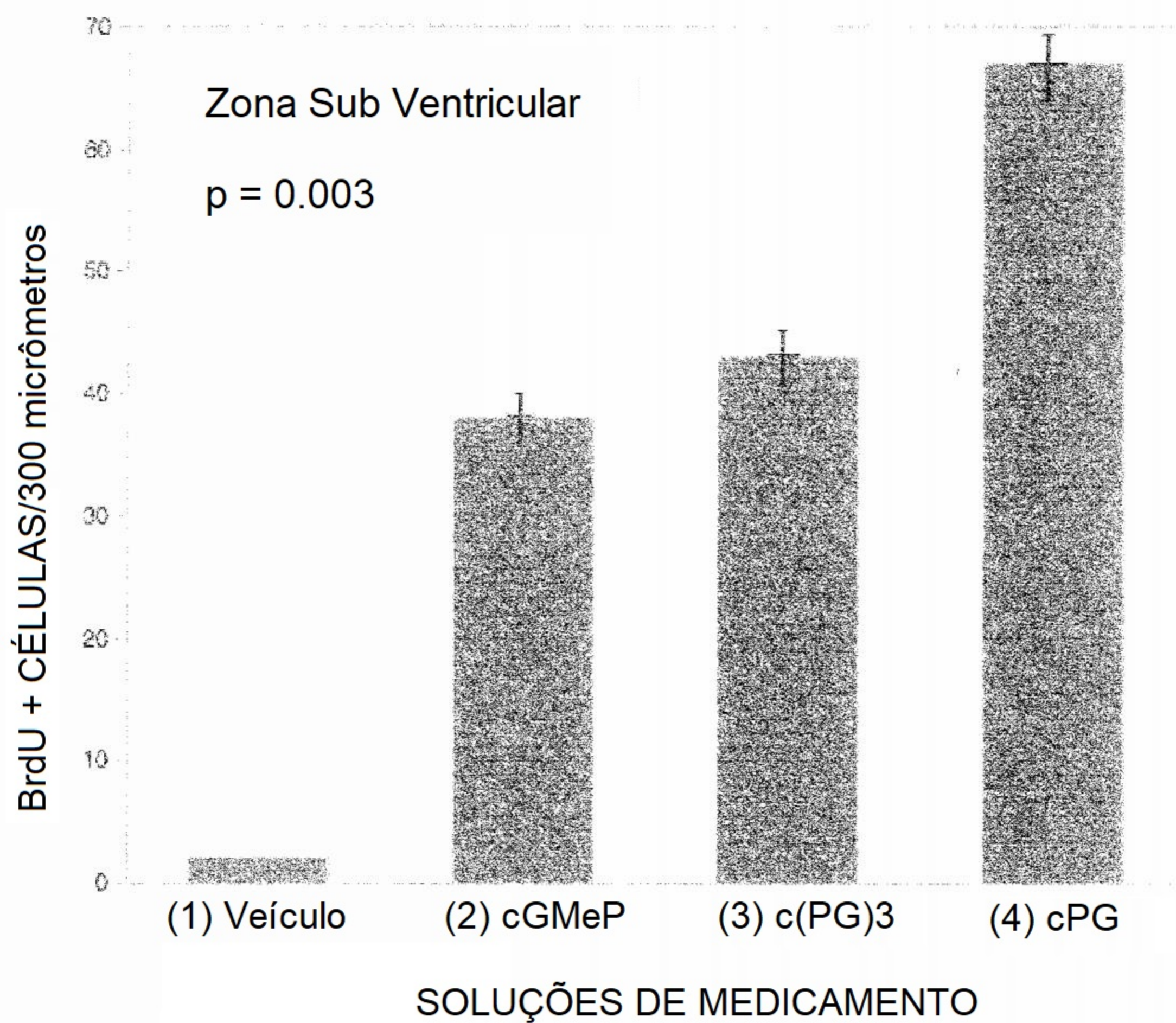
Figura 6

Tempo para os ratos chegarem à plataforma

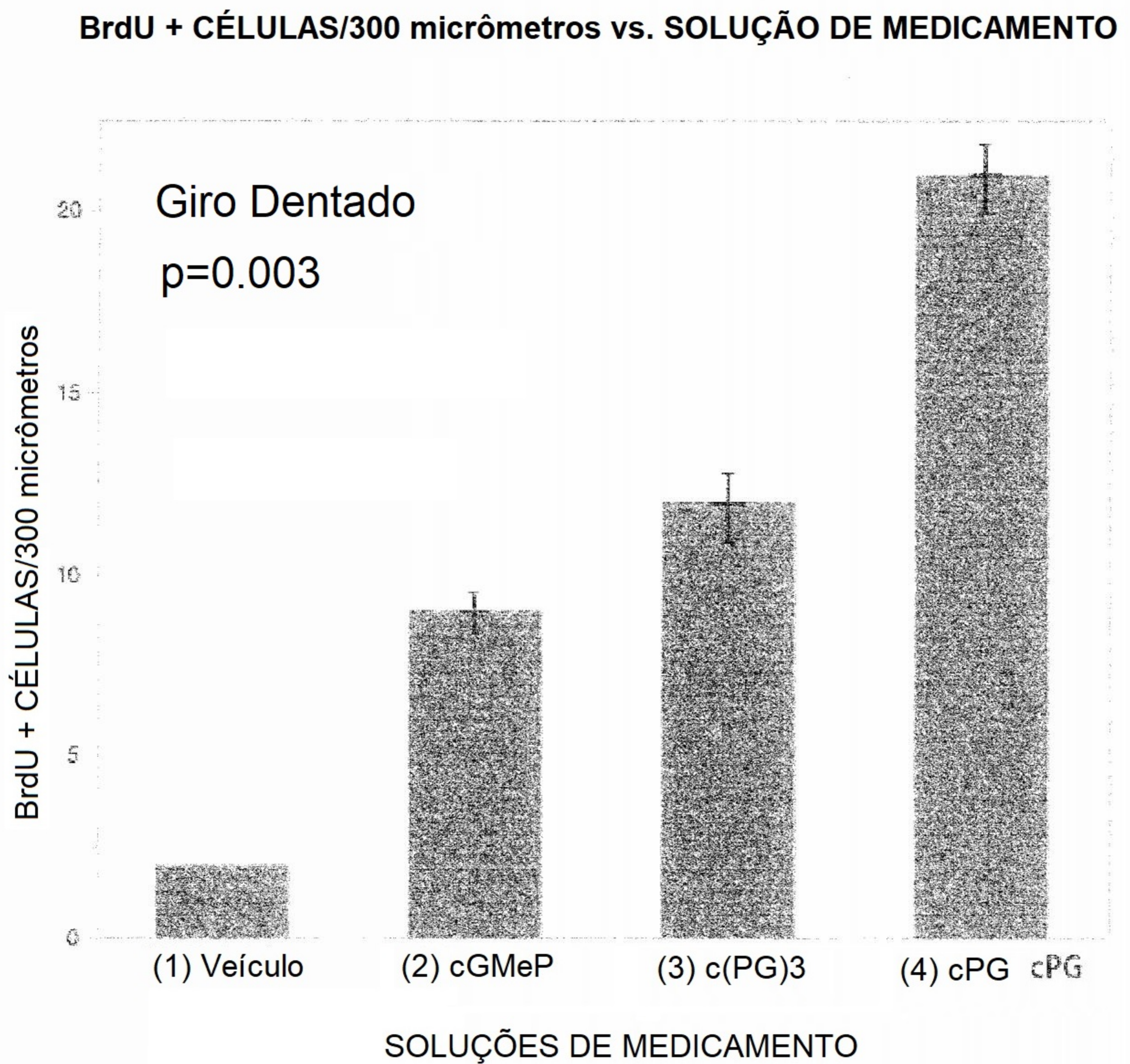


**Figura 7:** Gráfico mostrando o impacto de BrdU + Células/300 micrômetros na zona sub ventricular para soluções medicamentosas cPG, cGMeP e c(PG)3

### BrdU + CÉLULAS/300 micrômetros vs. SOLUÇÃO DE MEDICAMENTO

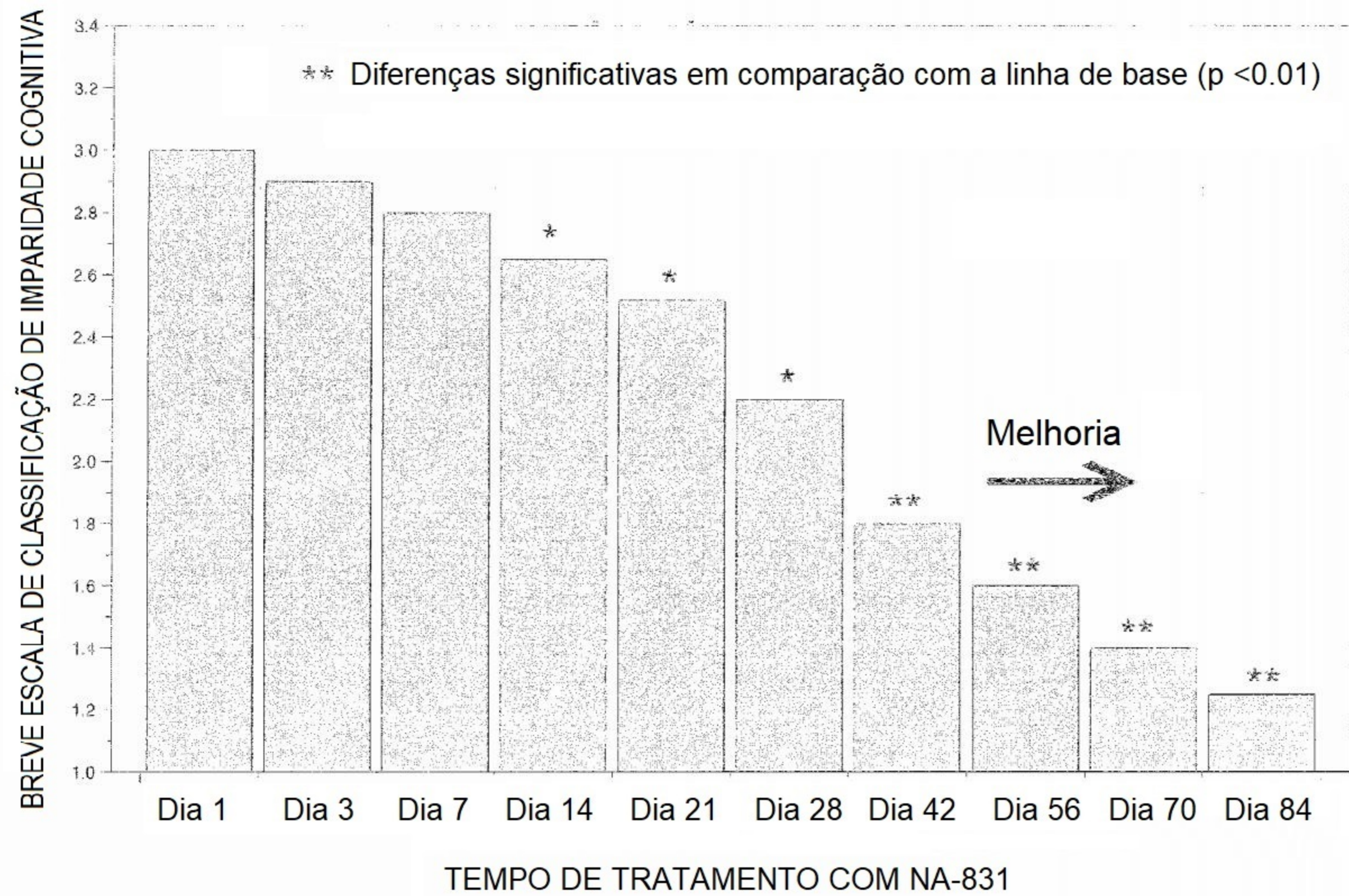


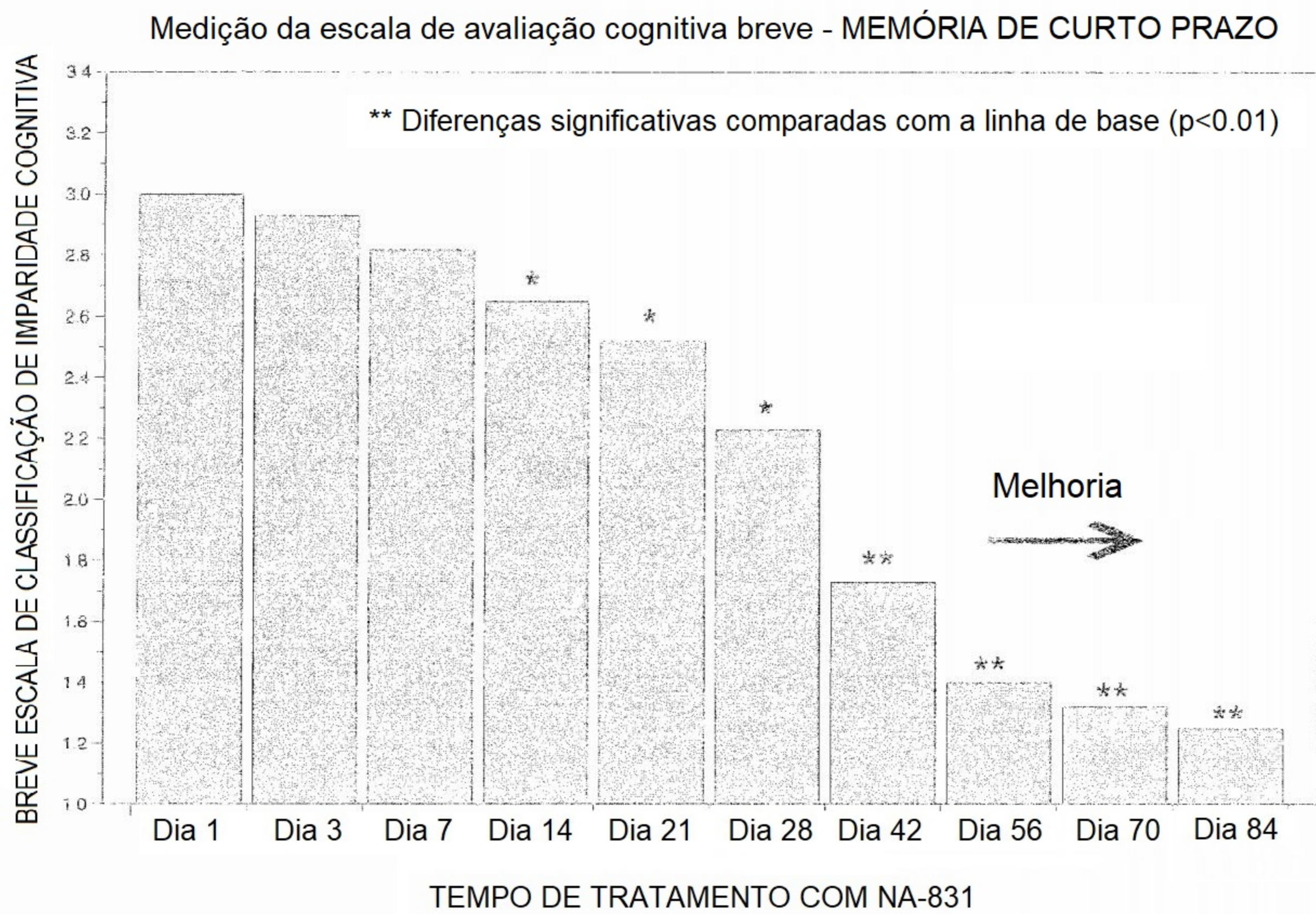
**Figura 8.** Gráfico mostrando o impacto de BrdU + Células/300 micrômetros em giro dentado para soluções medicamentosas cPG, cGMeP e c(PG)3



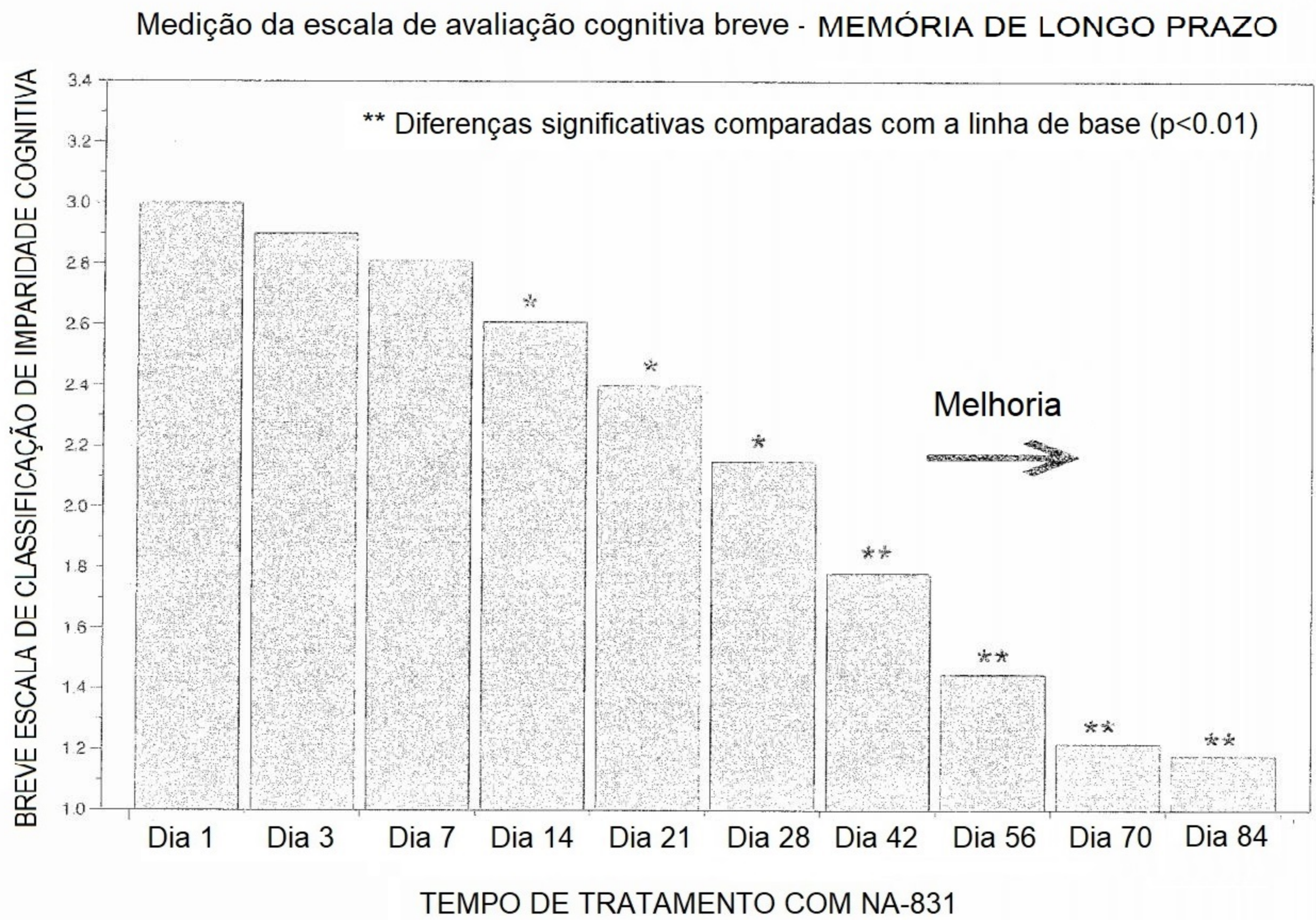
**Figura 9.** ilustrar a melhoria da Capacidade de Concentração e Contagem

Medição da Escala de Avaliação Cognitiva Breve - HABILIDADE DE CONCENTRAR E CONTAR

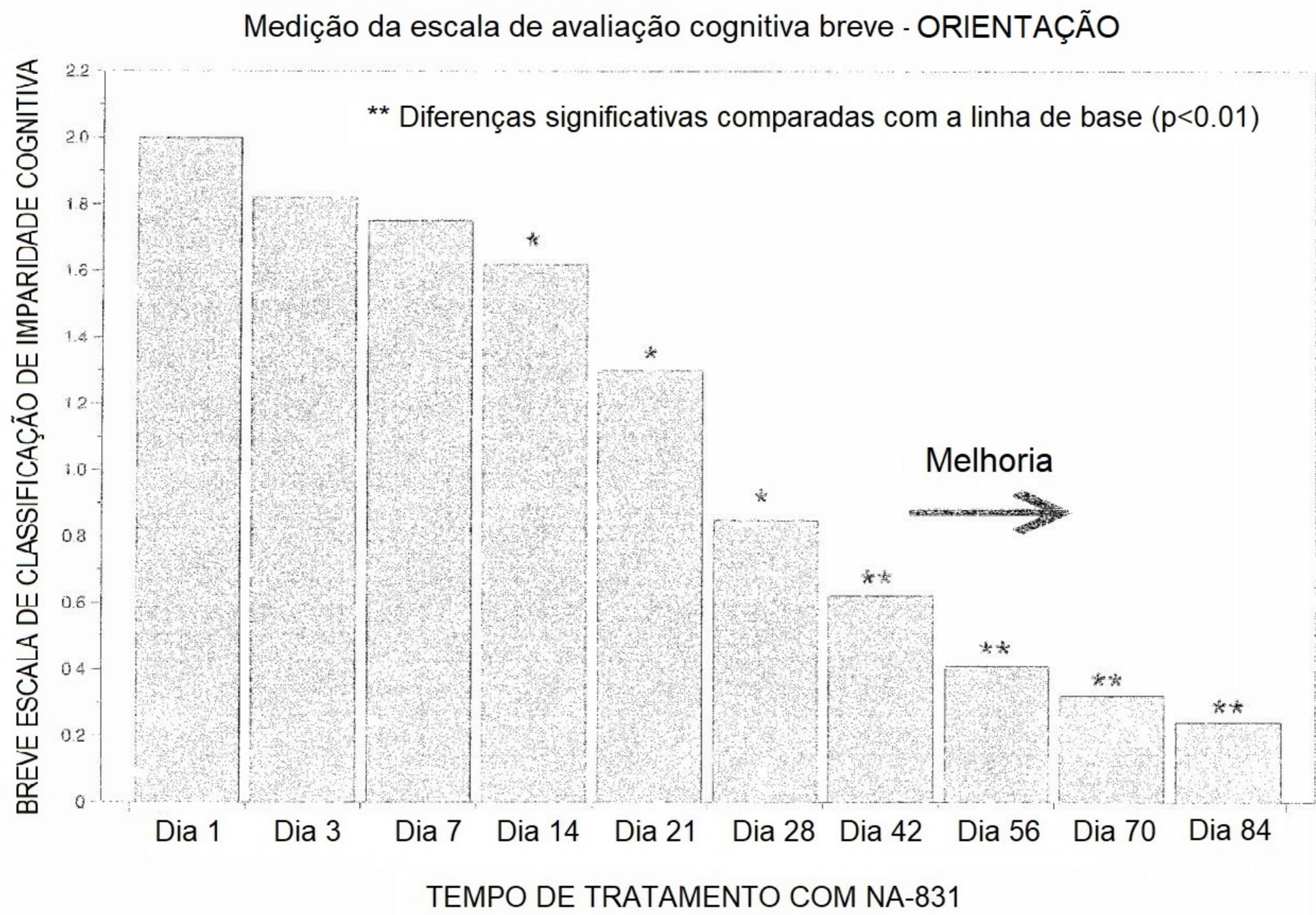


**Figura 10.** Ilustra a melhoria na Memória de Curto Prazo

**Figura 11:** ilustra a melhoria da Memória a Longo Prazo



**Figura 12:** ilustra o Impacto na Orientação



**Figura 13:** ilustra a melhoria nas Atividades Diárias e Auto-cuidado

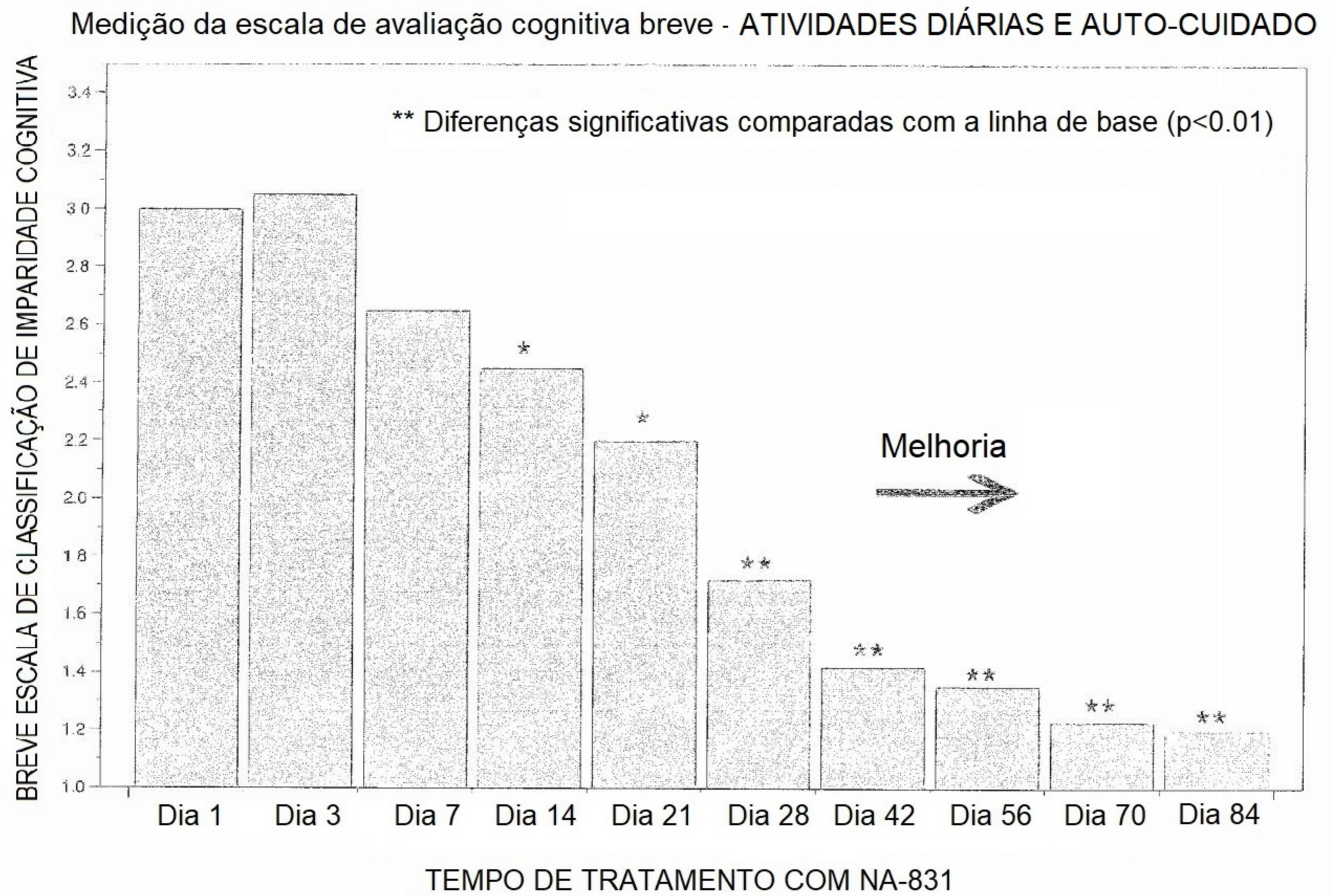
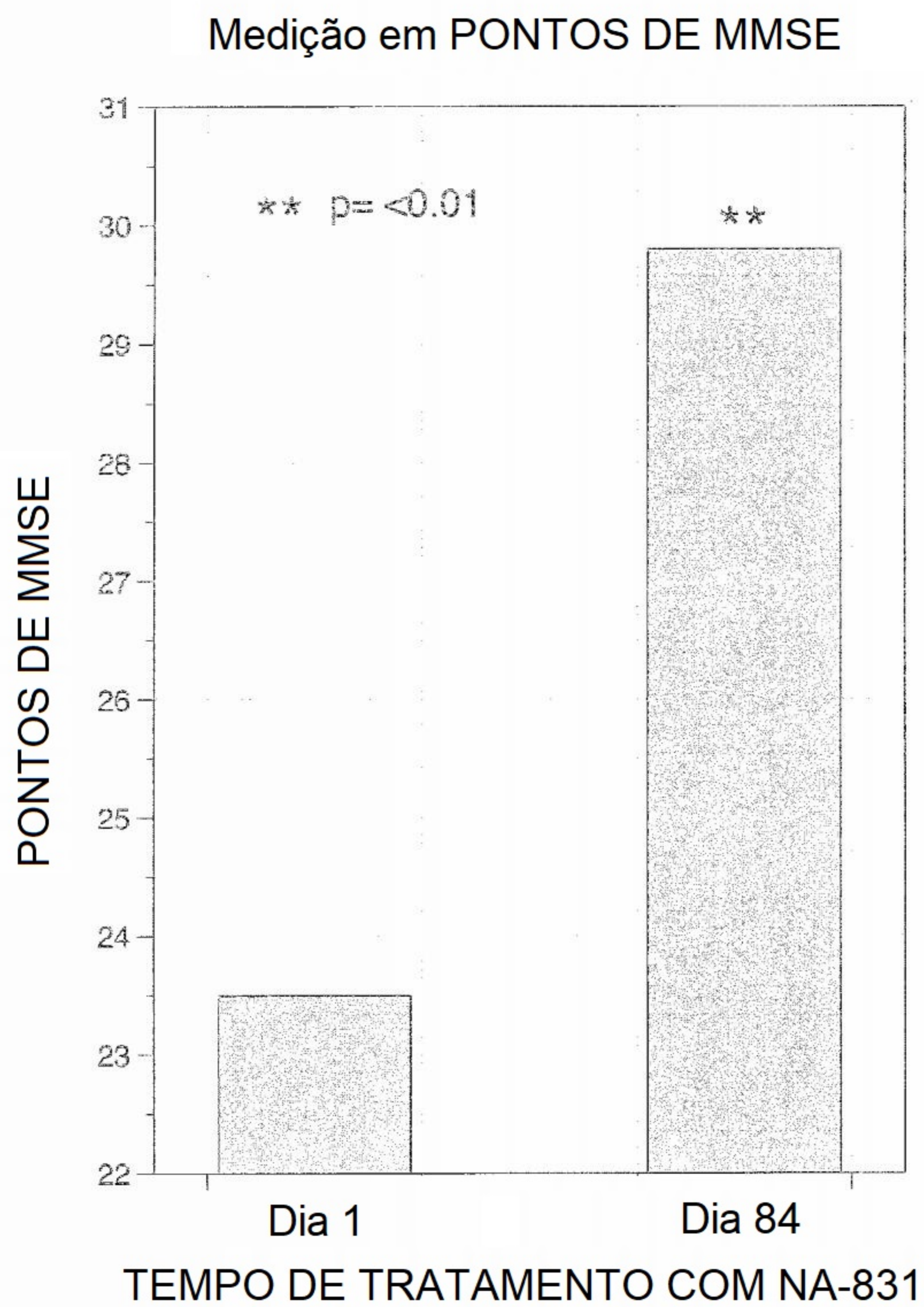
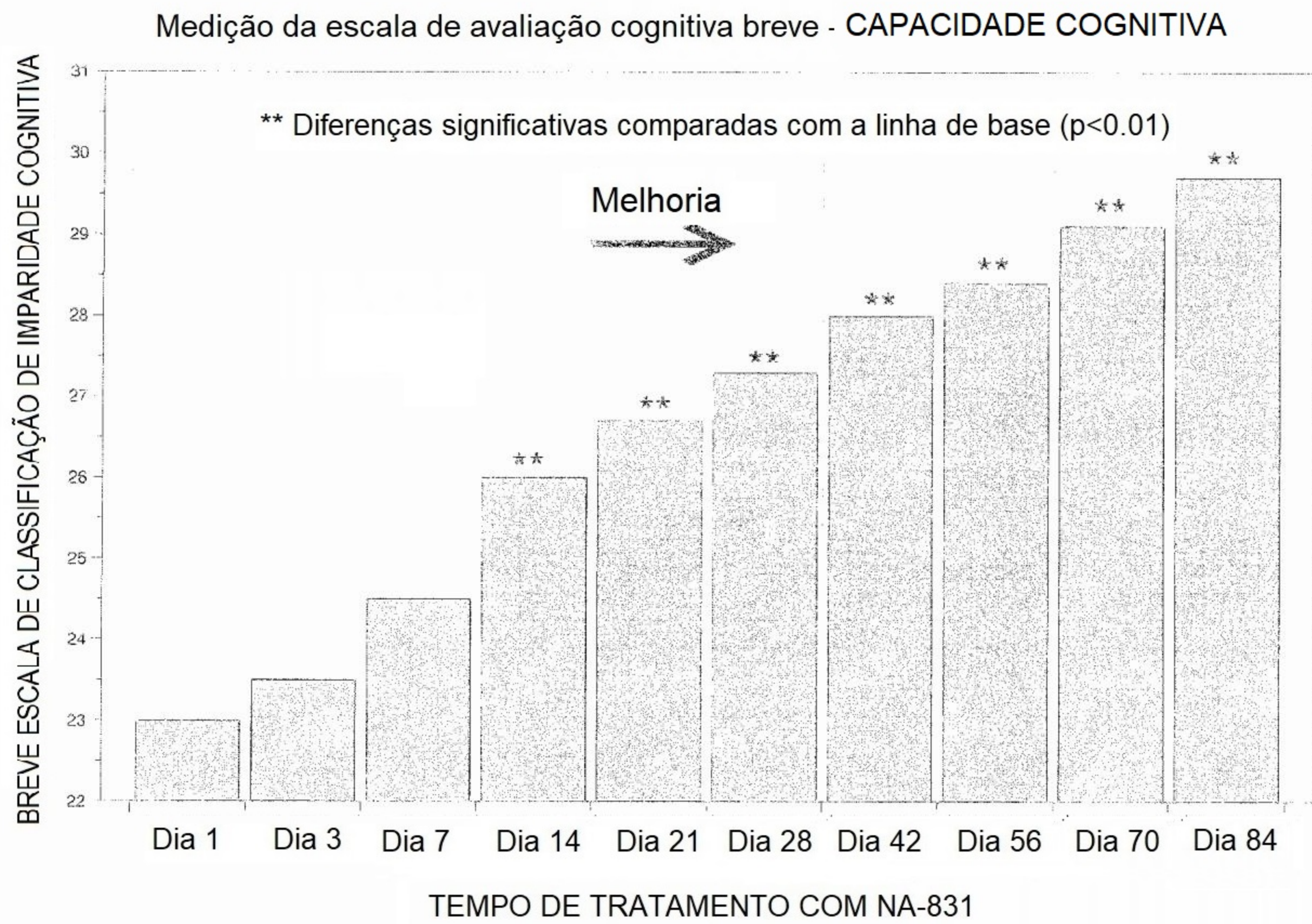


Figura 14: ilustra o Impacto na Emoção



**Figura 15:** ilustra o Impacto da Capacidade Cognitiva

## RESUMO

**COMPOSIÇÃO DO AGENTE TERAPÊUTICO E MÉTODO DE USO PARA TRATAMENTO DE DEFICIÊNCIA COGNITIVA LEVE, DEPRESSÃO E DISTÚRBIOS PSICOLÓGICOS.**

A presente invenção geralmente se refere ao uso de Prolil Glicina cíclica ("PG cíclico" ou "cPG") e seus análogos e miméticos como agentes neuroprotetores para o tratamento e/ou prevenção de comprometimento cognitivo e distúrbios neurológicos, incluindo, mas não se limitando, a isquemia cerebral ou enfarte cerebral, estado de mal epilético, asfixia perinatal, anóxia e trauma cerebral, bem como para o tratamento e prevenção de doenças neurodegenerativas crônicas, como doença de Alzheimer, doença de Parkinson e doença de Huntington, e como anticonvulsivantes. A presente invenção também fornece geralmente métodos de fabricação para preparar formas de dosagem. A presente invenção refere-se ainda genericamente ao uso de Prolil Glicina cíclica e seus análogos e miméticos como agentes neuroprotetores e neuro-regeneradores para o tratamento e ou prevenção de depressão e outros distúrbios psicológicos.