

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

(21) **PI0707557-0 A2**

(22) Data de Depósito: 06/02/2007
(43) Data da Publicação: 10/05/2011
(RPI 2105)



(51) Int.Cl.:
A61K 31/44
A61K 31/4741
C07D 491/02

(54) Título: **NEUROGÊNESE MEDIDA POR DERIVADO DE 4-ACILAMINOPIRIDINA**

(30) Prioridade Unionista: 07/02/2006 US 60/771,090

(73) Titular(es): MTSUBISHI TANABE PHARMA CORPORANTION

(72) Inventor(es): Carolee Barlow

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

(86) Pedido Internacional: PCT US2007003326 de 06/02/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/092535de 16/08/2007

(57) Resumo: NEUROGÊNESE MEDIADA POR DERIVADO DE 4-ACILAMINOPIRIDINA. A presente invenção refere-se a métodos para tratar doenças e condições do sistema nervoso central e periférico por estímulo ou aumento da neurogênese. A invenção inclui métodos baseados no uso de um derivado de 4-acilaminopiridina para estimular ou ativar a formação de novas células nervosas.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**NEUROGÊNESE MEDIADA POR DERIVADO DE 4-ACILAMINOPIRIDINA**".

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDO RELACIONADO

O presente pedido reivindica o benefício do pedido provisório
5 U.S. número 60/771.090, depositado em 7 de fevereiro de 2006, que é incorporado por referência neste documento em sua totalidade.

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se aos métodos para tratar doenças e condições do sistema nervoso central e periférico, por estímulo ou aumento da neurogênese, através de um derivado de 4-acilaminopiridina. A invenção inclui os métodos baseados na aplicação de um derivado de 4-acilaminopiridina para estimular ou ativar a formação de novas células nervosas.
10

ANTECEDENTE DA INVENÇÃO

A neurogênese é um processo vital nos cérebros de animais e seres humanos, pelo que novas células nervosas são continuamente geradas por todo o período de vida do organismo. As células recentemente criadas são capazes de diferenciar-se em células funcionais do sistema nervoso central e integrar-se nos circuitos neurais existentes, no cérebro. A neurogênese é sabida continuar por toda a fase adulta em duas regiões do cérebro do mamífero: a zona subventricular (SVZ) dos ventrículos laterais e o giro dentado do hipocampo. Nestas regiões, as células progenitoras neurais (NPCs) multipotentes continuam a dividir-se e dão surgimento a neurônios funcionais e células gliais novos (quanto a uma revisão, Gage 2000). Foi
20 mostrado que uma variedade de fatores pode estimular a neurogênese hipocampal de adultos, por exemplo, a adrenalectomia, o exercício voluntário, o ambiente enriquecido, o aprendizado dependente do hipocampo e os antidepressivos (Yehuda 1989, van Praag 1999, Brown J 2003, Gould 1999, Malberg 2000, Santarelli 2003). Outros fatores, tais como os hormônios adrenais, o estresse, a idade e as drogas de abuso, influenciam negativamente a neurogênese (Cameron 1994, McEwen 1999, Kuhn 1996, Eisch 2004).
25
30

A Patente U.S. 5.397.785 descreve diversos derivados de 4-

acilaminopiridina e composições que os compreendem, bem como o seu uso no tratamento de demência senil e Mal-de-Alzheimer. A Patente U.S. 6.884.805 descreve cristais polimorfos de um derivado de 4-acilaminopiridina e o seu uso em ativar um neurônio colinérgico que funciona de modo errado
5 que está associado com os distúrbios de perda de memória. Nenhuma destas patentes refere-se a um uso de um derivado de 4-acilaminopiridina em relação à neurogênese.

A citação dos documentos acima mencionados não é pretendida como uma admissão que quaisquer dos precedentes é técnica anterior perti-
10 nente. Todas as afirmações quanto à data ou representação quanto aos conteúdos destes documentos são baseadas na informação disponível para a requerente e não constituem qualquer admissão quanto à exatidão das datas ou dos conteúdos destes documentos.

BREVE SUMÁRIO DA INVENÇÃO

15 Descreve-se neste documento métodos para a profilaxia e o tratamento de doenças, condições e lesões dos sistemas nervosos central e periférico, por estímulo ou aumento da neurogênese. Os aspectos da invenção incluem aumentar a neurogênese nos casos de uma doença, distúrbio, ou condição do sistema nervoso. As modalidades da invenção incluem os
20 métodos de tratar um distúrbio neurodegenerativo, trauma neurológico, incluindo o trauma do cérebro ou do sistema nervoso central e/ou a sua recuperação, depressão, ansiedade, psicose, distúrbios de aprendizado e memória, e isquemia dos sistemas nervosos centrais e/ou periféricos.

Em um aspecto, a invenção inclui os métodos de estimular ou
25 aumentar a neurogênese. A neurogênese pode ser no nível de uma célula ou tecido. A célula ou o tecido pode estar presente em um paciente animal ou um ser humano, ou alternativamente estar em um ambiente *in vitro* ou *ex vivo*. Em algumas modalidades, a neurogênese é estimulada ou aumentada em uma célula ou tecido neural, tal como aquele do sistema nervoso central
30 ou periférico de um animal ou ser humano. Nos casos de um animal ou ser humano, os métodos podem ser praticados em conexão com uma ou mais doenças, distúrbios, ou condições do sistema nervoso, como presentes no

paciente animal ou ser humano. Assim, as modalidades da invenção incluem os métodos de tratar uma doença, distúrbio, ou condição por administração de um agente neurogênico, conforme descrito neste documento.

Em um outro aspecto, a invenção inclui os métodos de usar entidades químicas como agentes neurogênicos, para aumentar a neurogênese. Em algumas modalidades, uma entidade química é um derivado de 4-acilaminopiridina, tal como aqueles descritos na Patente U.S. 5.397.875, que é expressamente incorporada neste documento por referência como se inteiramente descrita. Em uma modalidade não limitativa, o derivado é a 2-(2-oxipirrolidin-1-il)-N-(2,3-dimetil-5,6,7,8-tetraidrofuro(2,3-b)quinolin-4-il)acetoamida. Em outras modalidades, o derivado está em uma forma de cristal polimorfo, conforme descrito na Patente U.S. 6.884.805, que é expressamente incorporada neste documento por referência como se inteiramente descrita. Obviamente, a invenção inclui o uso de mais do que um derivado. Nas modalidades adicionais, a invenção proporciona o uso de um ou mais derivados em combinação com um outro agente neurogênico.

Em um outro aspecto, os métodos incluem identificar um paciente que sofre de uma ou mais doenças, distúrbios, ou condições, ou de um sintoma deles, e administrar ao paciente pelo menos um agente neurogênico conforme descrito neste documento. Como um exemplo não limitativo, o agente é um derivado de 4-acilaminopiridina, como a 2-(2-oxipirrolidin-1-il)-N-(2,3-dimetil-5,6,7,8-tetraidrofuro(2,3-b)quinolin-4-il)acetoamida como um exemplo não limitativo. Em algumas modalidades, a invenção proporciona um método que inclui a identificação de um paciente como estando necessitado de um aumento na neurogênese, e a administração ao paciente de um ou mais agentes neurogênicos como descritos neste documento. Em outras modalidades, o paciente é um enfermo, tal como um enfermo humano.

A invenção adicionalmente proporciona um método que inclui administrar um ou mais agentes neurogênicos a um paciente que exibe os efeitos de quantidades insuficientes de, ou níveis inadequados de, neurogênese. Em algumas modalidades, o paciente pode ser um que tenha sido submetido a um agente que diminui ou inibe a neurogênese. Os exemplos

não limitativos de um inibidor da neurogênese incluem os agonistas de receptores de opióides, tais como um agonista dos subtipos de receptor μ , como a morfina. Em um modo relacionado, a invenção proporciona a administração de um ou mais agentes neurogênicos a um paciente ou pessoa

5 que será submetida a um agente que diminui ou inibe a neurogênese. Em algumas modalidades, o paciente ou a pessoa pode ser uma que está para ser administrada com morfina ou outro agonista de receptor de opióide, como um outro opiato, e desse modo está para ser submetido a uma diminuição ou inibição da neurogênese. Os exemplos não limitativos incluem a ad-

10 ministration de um agente neurogênico a um paciente antes do, simultaneamente com o, ou após o, paciente ser administrado com morfina ou outro opiato em conexão com um procedimento cirúrgico.

Divulgam-se também métodos para preparar uma população de células-tronco neurais, adequadas para o transplante, compreendendo o

15 cultivo de uma população de células-tronco neurais (NSCs) *in vitro*, e o contato das células-tronco neurais cultivadas com pelo menos um agente neurogênico da invenção. Em algumas modalidades, as células-tronco são preparadas e então transferidas para um animal ou ser humano hospedeiro receptor. Os exemplos não limitativos de preparação incluem 1) o contato com

20 um agente neurogênico até que as células tenham sofrido neurogênese, tal como aquela que é detectável por inspeção visual ou contagem de células, ou 2) o contato com um agente neurogênico até que as células tenham sido suficientemente estimuladas ou induzidas para a, ou na, neurogênese. As células preparadas em tal maneira não limitativa podem ser transplantadas

25 para um paciente, opcionalmente com administração simultânea, quase simultânea, ou subsequente de um agente neurogênico ao paciente. Embora as células-tronco neurais possam estar na forma de uma cultura ou linhagem celular *in vitro*, em outras modalidades, as células podem ser parte de um tecido que é subsequentemente transplantado em um paciente.

30 Em mais um outro aspecto, a invenção inclui métodos de estimular ou aumentar a neurogênese em um paciente, por administração de um derivado de 4-acilaminopiridina e um ou mais agentes neurogênicos adicio-

nais. Em algumas modalidades, a neurogênese ocorre em combinação com o estímulo da angiogênese, a qual proporciona novas células com acesso ao sistema circulatório.

Os detalhes das modalidades adicionais da invenção são apresentados nos desenhos que acompanham e na descrição abaixo. As outras características, objetivos, e vantagens da invenção serão aparentes a partir dos desenhos e da descrição detalhada, e a partir das reivindicações.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 é uma curva de resposta à dose mostrando o efeito do agente neurogênico MKC-231 sobre a diferenciação neuronal. O dado é apresentado como a porcentagem do controle positivo neuronal, com os valores do meio basal subtraídos. A EC_{50} foi observada em uma concentração de MKC-231 de 5,1 μ M nas células de teste, comparada a 4,7 μ M nas células de controle positivo.

A Figura 2 é uma curva de resposta à dose mostrando o efeito do agente neurogênico MKC-231 sobre a diferenciação de astrócitos. O dado é apresentado como a porcentagem do controle positivo de astrócitos, com os valores do meio basal subtraídos. A EC_{50} era indeterminável para o MKC-231 (maior do que a concentração testada), comparada a 19,9 μ M nas células de controle positivo.

A Figura 3 é uma curva de resposta à dose medindo o efeito da toxicidade/trofismo do agente neurogênico MKC-231 sobre uma população de células-tronco neurais cultivadas. O dado é apresentado como a porcentagem da contagem de células do meio basal.

A Figura 4 é uma curva de resposta à dose mostrando o aumento dos efeitos do agente MKC-231 sobre a diferenciação neuronal por combinação com um agonista de AMPA (AMPA). O dado é apresentado como a porcentagem do controle positivo neuronal, com os valores do meio basal subtraídos. A EC_{50} foi observada em uma concentração de MKC-231 de 0,99 μ M em combinação com o AMPA, comparada a 5,1 μ M com o MKC-231 sozinho.

A Figura 5 é uma série de imagens microscópicas imunofluores-

centes das monocamadas de células-tronco neurais humanas (hNSC) após coloração na imunoistoquímica com o marcador neuronal TUJ-1 (verde), o marcador de astrócitos GFAP (vermelho), e um marcador de células nucleares (Hoechst 33342 em azul). A imagem superior da esquerda é um controle negativo (meio basal), a imagem superior do meio é um controle positivo neuronal (meio basal mais um promotor conhecido de diferenciação neuronal), e a imagem superior da direita é um controle positivo de astrócitos (meio basal mais um indutor conhecido da diferenciação de astrócitos). A imagem inferior da esquerda mostra o efeito de 31,6 μM de MKC-231 sobre a diferenciação das hNSC e a imagem inferior da direita mostra o efeito de 31,6 μM de MKC-231 em combinação com 0,3161 μM de AMPA sobre a diferenciação neuronal.

A Figura 6 é a curva de resposta à dose média de múltiplos experimentos ($N = 6$) mostrando o aumento dos efeitos do agente MKC-231 sobre a diferenciação neuronal, por combinação com concentrações fixadas de agonista de AMPA (0,32 μM de AMPA). A concentração de AMPA usada não promove a diferenciação neuronal sozinha (linha cinza tracejada). O dado é apresentado como a porcentagem do controle positivo neuronal, com os valores do meio basal subtraídos. A EC_{50} foi observada em uma concentração de MKC-231 de 0,22 μM quando na presença de uma concentração fixa de AMPA (linha preta tracejada), comparada a 3,7 μM com o MKC-231 sozinho (linha preta sólida).

A Figura 7 é uma curva de resposta à dose mostrando a inibição dos efeitos do agente MKC-231 sobre a diferenciação neuronal por combinação com um antagonista de AMPA (NBQX). O dado é apresentado como a porcentagem do controle positivo neuronal, com os valores do meio basal subtraídos. A EC_{50} foi observada em uma concentração de MKC-231 de > 31,6 μM em combinação com o AMPA, comparada a 5,1 μM com o MKC-231 sozinho.

A Figura 8 é um gráfico de barras representando a alteração na neurogênese hipocampal (aumento nos novos neurônios) comparada ao controle de veículo ($\pm\text{SEM}$). O eixo y representa a porcentagem de alteração

comparada ao controle de veículo. A administração diária de 1,0 e 4,0 mg/kg de BCI-540, por 28 dias, resultou em um aumento de 22% e 20% em novos neurônios dentro da camada de células de grânulos do giro denteado, respectivamente.

5 A Figura 9 é um gráfico de barras representando a alteração na latência de comer no ensaio de alimentação suprimida pela novidade (um modelo de animal de depressão), comparado ao controle de veículo ($\pm$ SEM). O eixo y representa a porcentagem de alteração comparada ao controle de veículo. A administração diária de 1,0 mg/kg de BCI-540 e de 10,0 mg/kg de fluoxetina, por 21 dias, resultou em uma diminuição de 35% e 38% na latência de comer, respectivamente.

A Figura 10 é um gráfico de barras representando a porcentagem média de tempo gasto sobre os braços abertos de um labirinto em cruz elevado (um modelo de animal de ansiedade), comparado ao controle de veículo ($\pm$ SEM). A administração diária de 1,0 mg/kg de BCI-540, por 21 dias, resultou em um aumento de 20% no tempo gasto sobre os braços abertos. Uma única administração do ansiolítico clássico diazepam resultou em um aumento de 12% no tempo gasto sobre os braços abertos.

DESCRIÇÃO DETALHADA DOS MODOS DE PRATICAR A INVENÇÃO

20 A "neurogênese" é definida neste documento como a proliferação, a diferenciação, a migração e/ou a sobrevivência de uma célula neural *in vivo* ou *in vitro*. Em diversas modalidades, a célula neural é uma célula-tronco, ou população de células, neural, adulta, fetal, ou embrionária. As células podem estar localizadas no sistema nervoso central ou alhures em um animal ou ser humano. As células podem também estar em um tecido, tal como o tecido neural. Em algumas modalidades, a célula neural é uma célula, ou população de células, progenitora, adulta, fetal, ou embrionária, ou uma população de células compreendendo uma mistura de células-tronco e células progenitoras. As células neurais incluem todas as células-tronco do cérebro, todas as células progenitoras do cérebro, e todas as células precursoras do cérebro. A neurogênese inclui a neurogênese como ela ocorre durante o desenvolvimento normal, bem como a regeneração neural que ocorre após a

doença, o dano ou a intervenção terapêutica, tal como pelo tratamento descrito neste documento.

Um "agente neurogênico" é definido como um agente ou reagente químico que pode promover, estimular, ou de outro modo aumentar a quantidade ou o grau ou a natureza da neurogênese *in vivo* ou *ex vivo* ou *in vitro* em relação à quantidade, ao grau ou à natureza da neurogênese na ausência do agente ou reagente. Em algumas modalidades, o tratamento com um agente neurogênico aumenta a neurogênese se ele promover a neurogênese em pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 100%, pelo menos cerca de 500%, ou mais, em comparação com a quantidade, o grau, e/ou a natureza da neurogênese na ausência do agente, sob as condições do método usado para detectar ou determinar a neurogênese. Como exemplos não limitativos, o agente pode ser uma pequena molécula orgânica que seja um derivado de 4-acilaminopiridina.

O termo "célula-tronco" (ou célula-tronco neural (NSC)), conforme usado neste documento, refere-se a uma célula indiferenciada que é capaz de auto-renovação e diferenciação em neurônios, astrócitos, e/ou oligodendrócitos.

O termo "célula progenitora" (por exemplo, célula progenitora neural), conforme usado neste documento, refere-se a uma célula derivada de uma célula-tronco que não é, em si, uma célula-tronco. Algumas células progenitoras podem produzir progênie que é capaz de diferenciação em mais do que um tipo de célula.

A presente invenção inclui os métodos de aumentar a neurogênese por contato das células com um derivado de 4-acilaminopiridina como um agente neurogênico. As células podem estar *in vitro* ou *in vivo*, e incluem as células que estão presentes em um tecido ou órgão de um paciente animal ou ser humano. O derivado de 4-acilaminopiridina pode ser qualquer um que estimule ou aumente a neurogênese. Em um exemplo não limitativo, o derivado é a 2-(2-oxipirrolidin-1-il)-N-(2,3-dimetil-5,6,7,8-tetraidrofuró(2,3-b)quinolin-4-il)acetoamida (também conhecida como MKC-231, ou colurace-

tam, e identificada pelo número do Registro CAS 135463-81-9). As células são aquelas capazes de neurogênese, tal como para resultar, quer seja por diferenciação direta, quer seja por proliferação e diferenciação, em células neuronais ou gliais diferenciadas. Os exemplos representativos, e não limitativos, de outros compostos de derivados de 4-acilaminopiridina, para uso na presente invenção, são proporcionados na seção de Exemplos abaixo.

Sem estar ligado por teoria, e embora alguns derivados de 4-acilaminopiridina tenham sido contemplados em conexão com a inibição da atividade da acetilcolina esterase (AChE), não se acredita que a presente invenção esteja relacionada à inibição da AChE porque o MKC-231 não tem tal atividade inibitória. Similarmente, acredita-se que a invenção não esteja relacionada à ligação do derivado nos receptores muscarínicos ou nicotínicos. Acredita-se, entretanto, que a ação neurogênica do MKC-231 possa ser através da potenciação ou sensibilização do AMPA. Estas crenças são oferecidas para melhorar o entendimento da invenção e não limitam necessariamente a invenção.

Nas aplicações a um animal ou ser humano, a invenção refere-se a um método de colocar as células em contato com um agente neurogênico, ou uma quantidade eficaz do agente, em um modo que resulte em um aumento na neurogênese em comparação com a ausência do agente.

Um exemplo não limitativo é na administração do agente ao animal ou ser humano. O agente neurogênico pode ser considerado como fornecido exogenamente a uma célula ou tecido.

Em algumas modalidades, o termo "animal" ou "paciente animal" refere-se a um mamífero não humano, tal como um primata, cão ou felino. Em outras modalidades, o termo refere-se a um animal que é domesticado (por exemplo, os animais de fazenda) ou de outro modo sujeito ao cuidado e/ou à manutenção por seres humanos (por exemplo, os animais do zoológico e outros animais para exibição). Em outros exemplos não limitativos, os termos referem-se aos ruminantes ou carnívoros, tais como os cães, os gatos, as aves, os cavalos, o gado, a ovelha, as cabras, os animais marinhos e os mamíferos, os pingüins, o veado, o alce, e as raposas.

A presente invenção também se refere aos métodos de tratar as doenças, os distúrbios, e as condições dos sistemas nervosos centrais e/ou periféricos (SNC e SNP, respectivamente), por administração de um ou mais agentes neurogênicos. Conforme usado neste documento, o "tratar" inclui a

5 prevenção, a melhora, o alívio, e/ou a eliminação da doença, do distúrbio ou da condição que está sendo tratada, ou de um ou mais sintomas da doença, do distúrbio, ou da condição que está sendo tratada, bem como o aperfeiçoamento no bem-estar global de um paciente, como medido por critérios objetivos e/ou subjetivos. Em algumas modalidades, o tratamento é usado para

10 reverter, atenuar, minimizar, suprimir, ou interromper os efeitos indesejáveis ou deletérios, ou os efeitos da progressão, de uma doença, distúrbio, ou condição dos sistemas nervosos centrais e/ou periféricos. Em outras modalidades, o método de tratar pode ser vantajosamente usado nos casos onde a neurogênese adicional substituiria, reporia, ou aumentaria os números de

15 células perdidas devidas à lesão ou doença, como exemplos não limitativos.

Os exemplos não limitativos dos sintomas que podem ser tratados com os métodos descritos neste documento incluem o comportamento anormal, o movimento anormal, a hiperatividade, as alucinações, os delírios agudos, a combatividade, a hostilidade, a negativismo, o retraimento, o fe-

20 chamento, as falhas de memória, os defeitos sensoriais, as deficiências cognitivas, e a tensão. Os exemplos não limitativos de comportamento anormal incluem a irritabilidade, o fraco controle de impulsos, a distratibilidade, e a agressividade.

Em algumas modalidades, os métodos da invenção compreendem a utilização de um derivado de 4-acilaminopiridina como o agente neurogênico. A invenção, assim, inclui os métodos de contatar uma célula com um derivado de 4-acilaminopiridina, ou administrar tal derivado a um paciente, para resultar na neurogênese. Algumas modalidades compreendem o uso de um derivado, tal como o MKC-231, ou uma combinação de dois ou

25 mais derivados, tal como o MKC-231 e um outro derivado, como um agente

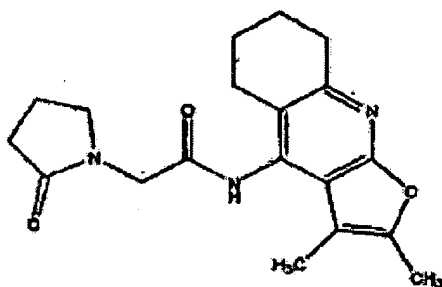
30 neurogênico.

Em algumas modalidades, o(s) agente(s) neurogênico(s) usa-

do(s) nos métodos descritos neste documento é(são) substancialmente inativo(s) com relação aos outros receptores, tais como os receptores muscarínicos, os receptores nicotínicos, os receptores de dopamina, e os receptores de opióides, como exemplos não limitativos.

5 Em algumas modalidades, um derivado de 4-acilaminopiridina é administrado a um paciente animal ou ser humano para resultar na neurogênese. Um derivado de 4-acilaminopiridina pode, assim, ser usado para tratar uma doença, distúrbio, ou condição, como descritos neste documento. Em outras modalidades, o derivado de 4-acilaminopiridina pode ser usado para
10 aumentar a neurogênese *in vitro*.

Os agentes neurogênicos para uso nas modalidades da invenção incluem o MKC-231, conforme descrito acima. Ele é representado pela seguinte estrutura:



Em algumas modalidades, o derivado de 4-acilaminopiridina é
15 um divulgado na Patente U.S. 5.536.728, ou uma forma de cristal polimorfo como divulgada na Patente U.S. 6.884.805. As estruturas, os dados de atividade biológica, os métodos para obter os dados de atividade biológica, os métodos de síntese, os modos de administração e as formulações farmacêuticas para tais compostos são divulgados neles.

20 Os métodos para avaliar a natureza e/ou o grau de neurogênese *in vivo* e *in vitro*, para detectar as alterações na natureza e/ou no grau de neurogênese, para identificar os agentes moduladores da neurogênese, para isolar e cultivar as células-tronco neurais, e para preparar as células-tronco neurais para o transplante ou outros propósitos são divulgados, por exemplo,
25 no Pedido Provisório U.S. Nº 60/697.905, e nas Publicações U.S. Nºs 2005/0009742 e 2005/0009847, 20050032702, 2005/0031538,

2005/0004046, 2004/0254152, 2004/0229291, e 2004/0185429, todos os quais são incorporados neste documento por referência em sua totalidade.

5 A neurogênese inclui a diferenciação das células neurais com diferentes linhagens potenciais. Em algumas modalidades da invenção, a diferenciação das células-tronco ou células progenitoras neurais é com uma linhagem de células neuronais e/ou gliais, opcionalmente com a exclusão da diferenciação com uma linhagem de astrócitos.

10 Os agentes neurogênicos descritos neste documento incluem os sais, os derivados, os pró-fármacos, e os metabólitos farmaceuticamente aceitáveis dos agentes. Os métodos para preparar e administrar os sais, os derivados, os pró-fármacos, e os metabólitos dos diversos agentes são bastante conhecidos na técnica.

15 Os compostos descritos neste documento que contêm um centro quiral incluem todos os estereoisômeros possíveis do composto, incluindo as composições compreendendo a mistura racêmica dos dois enantiômeros, bem como as composições compreendendo cada enantiômero individualmente, substancialmente livres do outro enantiômero. Assim, por exemplo, é contemplada neste documento uma composição compreendendo o enantiômero S de um composto substancialmente livre do enantiômero R, ou o enantiômero R substancialmente livre do enantiômero S. Se o composto mencionado compreender mais do que um centro quiral, o escopo da presente divulgação também inclui as composições compreendendo as misturas de proporções variadas entre os diastereoisômeros, bem como as composições compreendendo um ou mais diastereoisômeros substancialmente
25 livres de um ou mais dos outros diastereoisômeros. Por "substancialmente livre" pretende-se que a composição compreenda menos do que 25%, 15%, 10%, 8%, 5%, 3%, ou menos do que 1% do enantiômero secundário ou do(s) diastereoisômero(s). Os métodos para sintetizar, isolar, preparar, e administrar os diversos estereoisômeros são conhecidos na técnica.

30 Os métodos descritos neste documento podem ser usados para tratar qualquer doença ou condição para a qual seja benéfico promover ou de outro modo estimular ou aumentar a neurogênese. Um foco dos métodos

descritos neste documento é atingir um resultado terapêutico por aumento da neurogênese, em contraste com tratar a demência senil, a Mal-de-Alzheimer, ou os distúrbios de memória/perda de memória. Assim, certos métodos descritos neste documento podem ser usados para tratar qualquer

5 doença ou condição suscetível ao tratamento, por aumento da neurogênese. Por exemplo, em algumas modalidades, os métodos descritos neste documento são usados para tratar as doenças ou as condições que não estejam associadas com problemas significativos de demência ou memória, tais como a Doença de Parkinson, que é caracterizada pela degeneração dos neu-

10 rônios dopaminérgicos. Assim, em um aspecto, a presente invenção refere-se à descoberta de novas indicações terapêuticas para um derivado de 4-acilaminopiridina.

Em algumas modalidades, a doença ou a condição que está sendo tratada está associada com a dor e/ou a dependência, porém, em

15 contraste com os métodos conhecidos, os tratamentos da invenção são substancialmente mediados por aumento da neurogênese. Por exemplo, em algumas modalidades, os métodos descritos neste documento envolvem o aumento da neurogênese *ex vivo*, de modo tal que uma composição contendo as células-tronco neurais, as células progenitoras neurais, e/ou as células

20 neurais diferenciadas possa subsequente ser administrada a um indivíduo, para tratar uma doença ou condição. Em algumas modalidades, os métodos descritos neste documento permitem o tratamento de doenças caracterizadas por dor, dependência, e/ou depressão a serem tratadas diretamente repondo, substituindo, e/ou suplementando os neurônios e/ou as células

25 gliais. Nas modalidades adicionais, os métodos descritos neste documento aumentam o crescimento e/ou a sobrevivência de células neurais existentes, e/ou tornam lenta ou reverterem a perda de tais células em uma condição neurodegenerativa.

Os exemplos de doenças e condições tratáveis pelos métodos

30 descritos neste documento incluem, porém não estão limitados aos distúrbios neurodegenerativos, tais como doença de Parkinson, mal-de-Parkinson, doença de Huntington (Coréia de Huntington), doença de Lou Gehrig, escler-

rose múltipla, doença de Pick, síndrome da demência de parkinsonismo, gliose subcortical progressiva, paralisia supranuclear progressiva, síndrome da degeneração talâmica, afasia hereditária, esclerose lateral amiotrófica, síndrome de Shy-Drager, e doença do corpo de Lewy.

5 A invenção também proporciona o tratamento de um distúrbio do sistema nervoso relacionado à degeneração celular, uma condição psiquiátrica, trauma e/ou lesão celular, ou outras condições neurologicamente relacionadas. Na prática, a invenção pode ser aplicada a um paciente ou enfermo sofrendo de, ou diagnosticado com, um ou mais distúrbios do sistema
10 nervoso central ou periférico em qualquer combinação. O diagnóstico pode ser efetuado por uma pessoa versada nos campos aplicáveis, usando metodologias conhecidas e de rotina, as quais identificam e/ou distinguem estes distúrbios do sistema nervoso das outras condições.

 Os exemplos não limitativos dos distúrbios do sistema nervoso
15 central, relacionados à degeneração celular, incluem os distúrbios neurodegenerativos, os distúrbios das células-tronco neurais, os distúrbios das células progenitoras neurais, as doenças degenerativas da retina, e os distúrbios isquêmicos. Em algumas modalidades, um distúrbio isquêmico compreende uma insuficiência, ou falta, de oxigênio ou angiogênese, e os exemplos não
20 limitativos incluem a isquemia espinal, o acidente vascular cerebral isquêmico, o infarto cerebral, a demência por múltiplos infartos. Embora estas condições possam estar presentes individualmente em um paciente ou enfermo, a invenção também proporciona o tratamento de um paciente ou enfermo sofrendo de, ou diagnosticado com, mais do que uma destas condi-
25 ções em qualquer combinação.

 As modalidades não limitativas dos distúrbios do sistema nervoso, relacionados a uma condição psiquiátrica, incluem os distúrbios neuropsiquiátricos e os distúrbios afetivos. Conforme usado neste documento, um distúrbio afetivo refere-se a um distúrbio de humor, tal como, porém não limitado à, depressão, distúrbio do estresse pós-traumático (PTSD), hipomania,
30 ataques de pânico, elação excessiva, depressão bipolar, distúrbio bipolar (maníaco-depressivo), e distúrbio de humor (ou afetivo) periódico. As outras

modalidades não limitativas incluem a esquizofrenia e outras psicoses, a síndrome de lissencefalia, as síndromes de ansiedade, os distúrbios de ansiedade, as fobias, o estresse e as síndromes relacionadas, os distúrbios de função cognitiva, a agressão, o abuso de drogas e álcool, as síndromes de comportamento obsessivo compulsivo, o distúrbio limítrofe de personalidade, a demência não senil, a depressão pós-dor, a depressão pós-parto, e a paralisia cerebral.

Os exemplos de distúrbios do sistema nervoso, relacionados ao trauma e/ou à lesão celular ou tecidual, incluem, porém não estão limitados aos, traumas e lesões neurológicos, trauma e/ou lesão relacionados a cirurgias, lesão e trauma da retina, lesão relacionada à epilepsia, lesão do cordão espinhal, lesão do cérebro, cirurgia do cérebro, lesão do cérebro relacionada a trauma, trauma relacionado à lesão do cordão espinhal, lesão do cérebro relacionada a tratamento de câncer, lesão do cordão espinhal relacionada a tratamento de câncer, lesão do cérebro relacionada à infecção, lesão do cérebro relacionada à inflamação, lesão do cordão espinhal relacionada à infecção, lesão do cordão espinhal relacionada à inflamação, lesão do cérebro relacionada à toxina ambiental, e lesão do cordão espinhal relacionada à toxina ambiental.

Os exemplos não limitativos dos distúrbios do sistema nervoso, relacionados a outras condições neurologicamente relacionadas, incluem os distúrbios de aprendizagem, os distúrbios de memória, as deficiências de memória associadas à idade (AAMI) ou a perda de memória relacionada à idade, o autismo, os distúrbios de déficit de atenção, a narcolepsia, os distúrbios do sono, os distúrbios cognitivos, a epilepsia, e a epilepsia do lobo temporal.

Adicionalmente, a invenção proporciona o uso de um agente neurogênico para tratar um paciente ou enfermo para uma condição devida aos efeitos antineurogênicos de um analgésico à base de opiato ou opióide. Em algumas modalidades da invenção, a administração de um analgésico à base de opiato ou opióide, tal como um opiato como a morfina ou outro agonista de receptor de opióide, a um paciente ou enfermo, resulta em uma di-

minuição na, ou inibição da, neurogênese. A administração de um agente neurogênico da invenção em combinação com um analgésico à base de opioato ou opióide reduziria o efeito antineurogênico. Um exemplo não limitativo é a administração de um agente neurogênico da invenção em combinação com um agonista de receptor de opióide, após a cirurgia (tal como para o tratamento de dor pós-operativa).

Assim, a invenção inclui um método de tratar a dor pós-operativa em um paciente ou enfermo, por combinação da administração de um analgésico à base de opioato ou opióide com um agente neurogênico da invenção. O analgésico pode ter sido administrado antes de, simultaneamente com, ou após, um derivado de 4-acilaminopiridina. Em alguns casos, o analgésico ou agonista de receptor de opióide é a morfina ou um outro opioato.

Em outras modalidades da invenção, a invenção proporciona um método para tratar ou prevenir as diminuições na, ou a inibição da, neurogênese em outros casos que envolvam o uso de um agonista de receptor de opióide. Os exemplos não limitativos incluem os casos que envolvem um agonista de receptor de opióide, o qual diminui ou inibe a neurogênese, e a dependência de droga, a reabilitação da droga, e/ou a prevenção de recaída na dependência. Em algumas modalidades, o agonista de receptor de opióide é a morfina, o ópio ou um outro opioato.

Os compostos identificados pelos métodos da invenção podem também ser usados para tratar as doenças do sistema nervoso periférico (SNP), incluindo, porém não limitadas às, neuropatias do SNP (por exemplo, as neuropatias vasculares, as neuropatias diabéticas, as neuropatias amilóides, e similares), neuralgias, neoplasmas, doenças relacionadas à mielina, etc.

As outras condições que podem ser benéficamente tratadas por aumento da neurogênese são conhecidas na técnica (ver, por exemplo, as Publicações U.S. Nºs 20020106731, 2005/0009742 e 2005/0009847, 20050032702, 2005/0031538, 2005/0004046, 2004/0254152, 2004/0229291, e 2004/0185429. incorporadas neste documento por referência em sua totalidade).

Em algumas modalidades, os agentes neurogênicos usados nos métodos descritos neste documento compreendem as composições farmacêuticas que incluem pelo menos um excipiente farmacêuticamente aceitável. Conforme usado neste documento, o termo "excipiente farmacêuticamente aceitável" inclui qualquer excipiente conhecido no campo como adequado para a aplicação farmacêutica. Os excipientes e as formulações farmacêuticas adequados são conhecidos na técnica e são descritos, por exemplo, em Remington's Pharmaceutical Sciences (19^a ed.) (Genarro, ed. (1995) Mack Publishing Co., Easton, Pa.). De preferência, os veículos farmacêuticos são escolhidos com base no modo pretendido de administração do agente neurogênico. O veículo farmacêuticamente aceitável pode incluir, por exemplo, desintegrantes, aglutinantes, lubrificantes, agentes de deslizamento, emolientes, umectantes, espessantes, silicones, agentes aromatizantes, e água.

O agente neurogênico pode ser incorporado com excipientes e administrado na forma de comprimidos ingeríveis, comprimidos bucais, pastilhas, cápsulas, elixires, suspensões, xaropes, lâminas, ou qualquer outra forma conhecida nas técnicas farmacêuticas. As composições farmacêuticas da invenção podem também ser formuladas em uma forma de liberação continuada. As composições de liberação continuada, os revestimentos entéricos, e similares são conhecidos na técnica. Alternativamente, as composições podem ser uma formulação de liberação rápida.

Em algumas modalidades, os métodos de tratar de acordo com a invenção compreendem a etapa de administrar a um mamífero um agente neurogênico, como definido neste documento, por um tempo e em uma concentração suficiente para tratar a condição alvejada para o tratamento. Os métodos da invenção podem ser aplicados a indivíduos tendo, ou que sejam prováveis de desenvolver, distúrbios que se relacionam à degeneração neural, ao dano neural e/ou à desmielinização neural. Em algumas modalidades, os métodos descritos neste documento compreendem uma etapa de selecionar uma população ou subpopulação de pacientes, ou selecionar um paciente individual, que seja mais receptiva ao tratamento e/ou menos suscetível aos efeitos colaterais do que os outros pacientes tendo a mesma doença

ou condição. Por exemplo, em algumas modalidades, uma subpopulação de pacientes é identificada como sendo mais receptiva à neurogênese com um agente neurogênico, retirando uma amostra de célula ou tecido dos prováveis pacientes, isolando e cultivando as células neurais a partir da amostra, e determinando o efeito de um ou mais agentes neurogênicos sobre o grau ou a natureza da neurogênese, desse modo permitindo a seleção de pacientes para os quais o agente terapêutico tem um efeito substancial sobre a neurogênese. Vantajosamente, a(s) etapa(s) de seleção resulta(m) no tratamento mais eficaz para a doença ou a condição que os métodos conhecidos que utilizam compostos iguais ou similares.

Em outras modalidades, o método de tratamento compreende identificar, gerar, e/ou propagar as células neurais *ex vivo* usando um ou mais agentes neurogênicos, e transplantar as células em um paciente. Em uma outra modalidade, o método de tratamento compreende as etapas de contatar uma célula-tronco neural da célula progenitora com um ou mais agentes neurogênicos, para estimular a neurogênese, e transplantar as células em um paciente que necessite do tratamento. São também divulgados os métodos para preparar uma população de células-tronco neurais, adequadas para o transplante, compreendendo o cultivo de uma população de células-tronco neurais (NSCs) *in vitro*, e contatar as células-tronco neurais cultivadas com pelo menos um agente neurogênico da invenção. A invenção adicionalmente inclui os métodos de tratar as doenças, os distúrbios, e as condições descritos neste documento, por transplante de tais células em um paciente ou enfermo.

Os métodos descritos neste documento podem compreender a administração ao paciente de uma quantidade eficaz de um composto ou composição farmacêutica. Em geral, uma quantidade eficaz de um composto de acordo com a invenção é uma quantidade suficiente para estimular ou aumentar a neurogênese no paciente alvejado para o tratamento, quando comparada à ausência do composto. Uma quantidade eficaz de uma composição pode variar com base em uma variedade de fatores, incluindo, porém não limitados à, a atividade do(s) composto(s) ativo(s), as característi-

cas fisiológicas do paciente, a natureza da condição a ser tratada, e a rota e/ou o método de administração. Os métodos da invenção tipicamente envolvem a administração de um agente da invenção em uma faixa de dosagens de 0,001 ng/kg/dia a 500 ng/kg/dia, preferivelmente em uma faixa de dosagens de 0,05 a 200 ng/kg/dia. Vantajosamente, os métodos descritos neste documento permitem o tratamento de indicações com reduções nos efeitos colaterais, níveis de dosagens, frequência da dosagem, duração do tratamento, tolerabilidade, e/ou outros fatores.

Em algumas modalidades dos métodos descritos neste documento, o uso de agentes neurogênicos tendo atividade seletiva pode permitir o tratamento eficaz, com efeitos colaterais substancialmente menores e/ou menos graves, comparado aos tratamentos existentes. Por exemplo, os agentes neurogênicos com seletividade dentro do SNC podem reduzir os efeitos colaterais associados com a atividade em receptores de opióides fora do tecido/órgão-alvo pretendido. Os métodos estabelecidos de tratar diversas condições do SNC e do SNP com os compostos tendo atividade contra os receptores de opióides são sabidos causarem efeitos colaterais, incluindo, porém não limitados ao suor, diarreia, rubor, hipotensão, bradicardia, broncoconstrição, contração da bexiga urinária, náusea, vômito, parkinsonismo, e risco aumentado de mortalidade. Em algumas modalidades, os métodos descritos neste documento permitem o tratamento de certas condições com doses que minimizam estes efeitos colaterais.

Dependendo do resultado clínico desejado, as composições farmacêuticas da invenção são administradas por qualquer meio adequado para atingir um efeito desejado. Diversos métodos de distribuição são conhecidos na técnica e podem ser usados para distribuir um agente de teste para um paciente ou para as NSCs ou as células progenitoras dentro de um tecido de interesse. O método de distribuição dependerá de fatores tais como o tecido de interesse, a natureza do composto (por exemplo, a sua estabilidade e capacidade de cruzar a barreira hematoencefálica), e a duração do experimento, entre outros fatores. Por exemplo, uma minibomba osmótica pode ser implantada em uma região neurogênica, tal como o ventrículo late-

ral. Alternativamente, os compostos podem ser administrados por injeção direta no líquido cerebrospinal do cérebro ou coluna espinal, ou no olho. Os compostos podem também ser administrados na periferia (tal como por injeção intravenosa ou subcutânea, ou distribuição oral), e subsequentemente cruzar a barreira hematoencefálica.

Nas diversas modalidades, as composições farmacêuticas da invenção são administradas em um modo que as permita contatar a zona subventricular (SVZ) dos ventrículos laterais e/ou o giro denteado do hipocampo. Os exemplos de rotas de administração incluem a administração parenteral, por exemplo, intravenosa, intradérmica, subcutânea, oral (por exemplo, inalação), transdérmica (tópica), transmucosa, e retal. A administração intranasal geralmente inclui, porém não está limitada à inalação de suspensões de aerossóis para a distribuição das composições para a mucosa nasal, a traquéia e os bronquíolos.

Em algumas modalidades, os compostos da invenção são administrados de modo a passar através da, ou contornar a, barreira hematoencefálica. Os métodos para permitir que fatores passem através da barreira hematoencefálica são conhecidos na técnica, e incluem minimizar o tamanho do fator, proporcionar fatores hidrofóbicos que facilitem a passagem, e conjugar o agente neurogênico ou outro agente a uma molécula veículo que tenha permeabilidade substancial através da barreira hematoencefálica. Em algumas situações, o agente neurogênico pode ser administrado por um procedimento cirúrgico implantando um cateter acoplado a um dispositivo de bomba. O dispositivo de bomba pode também ser implantado ou ser posicionado de modo extracorporal. A administração do agente neurogênico pode ser em pulsos intermitentes ou como uma infusão contínua. Os dispositivos para a injeção em áreas distintas do cérebro são conhecidos na técnica. Em uma modalidade preferida, o agente neurogênico é administrado localmente ao ventrículo do cérebro, substância negra, estriado, locus cerúleo, núcleo basal de Meynert, núcleo pedunculopontino, córtex cerebral, e/ou cordão espinal por, por exemplo, injeção. Os métodos, as composições, e os dispositivos para distribuir as substâncias terapêuticas, incluindo as subs-

tâncias terapêuticas para o tratamento de doenças e condições do SNC e SNP, são conhecidos na técnica.

Em algumas modalidades, a distribuição ou o alvejamento de agentes neurogênicos para uma região neurogênica, tal como o giro denteado ou a zona subventricular, aumenta a eficácia e reduz os efeitos colaterais em comparação com os métodos conhecidos que envolvem a administração com compostos iguais ou similares.

Nas modalidades da invenção para tratar pacientes e enfermos, os métodos incluem identificar um paciente que sofra de uma ou mais doenças, distúrbios, ou condições, ou um sintoma deles, e administrar ao paciente ou enfermo pelo menos um agente neurogênico como descrito neste documento. A identificação de um paciente ou enfermo como tendo uma ou mais doenças, distúrbios ou condições, ou um sintoma deles, pode ser feita por um profissional versado, usando qualquer meio apropriado, conhecido no campo.

Nas modalidades adicionais da invenção, os métodos podem ser usados para tratar uma célula, um tecido, ou um paciente que esteja exibindo neurogênese diminuída ou neurodegeneração aumentada. Em alguns casos, a célula, o tecido, ou o paciente é, ou foi, submetido a, ou contatado com, um agente que diminui ou inibe a neurogênese. Um exemplo não limitativo é um paciente humano que tenha sido administrado com morfina ou outro agente que diminui ou inibe a neurogênese. Os exemplos não limitativos dos outros agentes incluem os opiatos e os agonistas de receptor de opióide, tais como os agonistas dos subtipos de receptor μ_1 , que inibem ou diminuem a neurogênese.

Assim, nas modalidades adicionais da invenção, os métodos podem ser usados para tratar pacientes tendo, ou diagnosticados com, depressão ou outros sintomas de retraimento a partir da morfina ou de outros agentes que diminuem ou inibem a neurogênese. Isto é diferente do tratamento de pacientes tendo, ou diagnosticados com, depressão independente de um opiato, tal como aquela de uma natureza psiquiátrica, conforme divulgado neste documento. Nas modalidades adicionais, os métodos podem ser

usados para tratar um paciente com um ou mais vícios ou dependências químicas, tal como com morfina ou outros opiatos, onde o vício ou a dependência é melhorada ou aliviada por um aumento na neurogênese.

Nas modalidades que compreendem o tratamento de depressão, os métodos podem adicionalmente compreender o uso de um ou mais agentes antidepressivos. Assim, no tratamento de depressão em um paciente ou enfermo, o método pode compreender um agente neurogênico, como descrito neste documento, com um ou mais agentes antidepressivos, como conhecidos da pessoa versada. Os exemplos não limitativos de agentes antidepressivos, para uso com um agente neurogênico da invenção, incluem um SSRI, tal como a fluoxetina (Prozac[®]), citalopram, escitalopram, fluvoxamina, paroxetina (Paxil[®]), e sertralina (Zoloft[®]), bem como os ingredientes ativos de medicações conhecidas, incluindo Luvox[®] e Serozone[®]; os inibidores seletivos da recaptação de norepinefrina (SNRI), tais como a reboxetina (Edronax[®]) e a atomoxetina (Strattera[®]); o inibidor seletivo da recaptação de serotonina e norepinefrina (SSNRI), tal como venlafaxina (Effexor) e duloxetina (Cymbalta); e os agentes como o baclofeno, a deidroepiandrosterona (DHEA), e o sulfato de DHEA (DHEAS). Em algumas modalidades, o uso de um agonista dos subtipos de receptor de opióide μ e um SSRI, ou baclofeno, é usado na prática da invenção. A terapia de combinação pode ser vantajosamente usada para melhorar a condição do paciente ou do enfermo. Os exemplos não limitativos de terapia de combinação incluem o uso de dosagens que reduzem os efeitos colaterais de um agente antidepressivo, quando usado sozinho. Por exemplo, um agente antidepressivo como a fluoxetina ou a paroxetina ou a sertralina pode ser administrado em uma dose reduzida ou limitada, opcionalmente também reduzida na frequência de administração, em combinação com um agente neurogênico da invenção. A dose reduzida com o agente neurogênico media um efeito antidepressivo suficiente, de modo que os efeitos colaterais do agente antidepressivo sozinho são reduzidos ou eliminados.

Nas modalidades para tratar o ganho de peso e/ou para induzir a perda de peso, um agente neurogênico da invenção pode ser usado em

combinação com um outro agente para tratar o ganho de peso e/ou induzir a perda de peso. Os exemplos não limitativos de um outro agente para tratar o ganho de peso e/ou induzir a perda de peso incluem as diversas pílulas de dieta que estão comercialmente disponíveis.

5 Nas outras modalidades compreendendo a terapia de combinação, os métodos da invenção compreendem aumentar a neurogênese em um paciente ou enfermo por administração de um derivado de 4-acilaminopiridina e um ou mais agentes neurogênicos adicionais ou um ou mais agentes moduladores da neurogênese. Assim, embora os agentes neurogênicos da invenção possam ser administrados como o único agente farmacêutico ativo, eles podem também ser usados em combinação com um ou mais agentes ativos adicionais, tais como um outro agente neurogênico, opcionalmente um que funcione por um mecanismo alternativo. Quando administrados como uma combinação, os agentes terapêuticos podem ser formulados como composições separadas que são administradas ao mesmo tempo ou seqüencialmente em tempos diferentes, ou os agentes terapêuticos podem ser dados como uma única composição. A invenção não está limitada na seqüência de administração.

20 O(s) agente(s) neurogênico(s) adicional(is) pode(m) ser um agente opióide ou não opióide (atua independentemente de um receptor de opióide). Em algumas modalidades, o agente neurogênico adicional é um que antagoniza um ou mais receptores de opióides ou é um agonista invertido de pelo um receptor de opióide. Um antagonista ou agonista invertido de receptor de opióide da invenção pode ser específico ou seletivo (ou alternativamente não específico ou não seletivo) para os subtipos de receptor de opióide. Assim, um antagonista pode ser não específico ou não seletivo, de modo tal que ele antagoniza mais do que um dos três subtipos de receptor de opióide conhecidos, identificados como OP_1 , OP_2 , e OP_3 (também conhecidos como delta, ou δ , kappa, ou κ , e mi, ou μ , respectivamente). Assim, um opióide que antagoniza quaisquer dois, ou todos os três, destes subtipos, ou um agonista invertido que seja específico ou seletivo para quaisquer dois, ou todos os três, destes subtipos pode ser usado na prática da invenção. Alter-

nativamente, um antagonista ou agonista invertido pode ser específico ou seletivo para um dos três subtipos, tal como o subtipo μ , como um exemplo não limitativo.

Em algumas modalidades, o(s) agente(s) neurogênico(s) adicional(is), usado(s) nos métodos descritos neste documento, tem(têm) atividade "seletiva" (tal como no caso de um antagonista ou agonista invertido), sob certas condições, contra um ou mais subtipos de receptor de opióide em relação ao grau e/ou à natureza da atividade contra um ou mais outros subtipos de receptor de opióide. Por exemplo, em algumas modalidades, o agente neurogênico tem um efeito antagonista contra um ou mais subtipos, e um efeito muito mais fraco ou substancialmente nenhum efeito contra os outros subtipos. Como um outro exemplo, um agente neurogênico adicional, usado nos métodos descritos neste documento, pode atuar como um agonista em um ou mais subtipos de receptor de opióide e como antagonista em um ou mais outros subtipos de receptor de opióide. Em algumas modalidades, um agente neurogênico tem atividade contra os receptores de opióides κ , ao mesmo tempo tendo substancialmente menos atividade contra um ou ambos os subtipos de receptor δ e μ . Em outras modalidades, um agente neurogênico tem atividade contra dois subtipos de receptor de opióide, tais como os subtipos κ e δ . Como exemplos não limitativos, os agentes naloxona e naltrexona têm atividades antagonistas não seletivas contra mais do que um dos subtipos de receptor de opióide. Em certas modalidades, a atividade seletiva de um ou mais antagonistas opióides resulta em eficácia aumentada, menos efeitos colaterais, menores dosagens eficazes, dosagem menos freqüente, ou outros atributos desejáveis.

Um antagonista de receptor de opióide é um agente capaz de inibir uma ou mais respostas características de um receptor de opióide ou subtipo de receptor. Como um exemplo não limitativo, um antagonista pode ligar-se competitiva ou não competitivamente a um receptor de opióide, um agonista ou agonista parcial (ou outro ligante) de um receptor, e/ou uma molécula de sinalização a jusante, para inibir a função de um receptor.

Pode também ser usado um agonista invertido, capaz de blo-

quear ou inibir uma atividade constitutiva de um receptor de opióide. Um agonista invertido pode ligar-se competitiva ou não competitivamente a um receptor de opióide e/ou uma molécula de sinalização a jusante, para inibir a função de um receptor. Os exemplos não limitativos de agonistas invertidos, para uso na prática da invenção, incluem ICI-174864 (*N,N*-dialil-Tyr-Aib-Aib-Phe-Leu), RTI-5989-1, RTI-5989-23, e RTI-5989-25 (ver Zaki e col. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 298(3): 1015-1020, 2001).

Nas outras modalidades, o agente neurogênico adicional pode ser um modulador de um receptor muscarínico. Os exemplos não limitativos de tais agentes incluem o agonista muscarínico milamelina (CI-979) e xanomelina; o agente muscarínico alvamelina (LU 25-109), 2,8-dimetil-3-metilen-1-oxa-8-azaespiro[4,5]decano (YM-796) ou YM-954, cevimelina (AF102B), sabcomelina (SB 202026), talsaclidina (WAL 2014 FU), CD-0102 (Ácido trifluoracético de (5-(3-etil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-1,4,5,6-tetraidropirimidina), derivado de 1-metil-1,2,5,6-tetraidropiridil-1,2,5-tiadiazol, tal como [3-(1-metil-1,2, 5, 6-tetraidropirid-3-il)-1,2, 5-tiadiazol-4-il]éter tetra(etilenoglicol)(4-metóxi-1,2,5-tiadiazol-3-ílico), ou um composto que seja funcional ou estruturalmente relacionado a um derivado de 1-metil-1,2,5,6-tetraidropiridil-1,2,5-tiadiazol, besipiridina, SR-46559, L-689.660, S-9977-2, AF-102, ou tiopilocarpina, um análogo de clozapina ou um diaril[a,d]cicloepteno, tal como uma forma substituída com amino dele, um derivado de benzimidazolidinona, e um composto espiroazacíclico, tal como 1-oxa-3,8-diaza-espiro[4, 5]decan-2-ona, um análogo de tetraidroquinolina; e um agonista de receptor m₁ muscarínico, selecionado a partir de 55-LH-3B, 55-LH-25A, 55-LH-30B, 55-LH-4-1A, 40-LH-67, 55-LH-15A, 55-LH-16B, 55-LH-11C, 55-LH-31A, 55-LH-46, 55-LH-47, 55-LH-4-3A.

Nas modalidades adicionais, o agente adicional pode ser um que aumente o nível de um agonista muscarínico endógeno, tal como a acetilcolina. Os exemplos não limitativos de tais agentes adicionais incluem os inibidores de acetilcolina esterase Tacrina, Donepezil, Itoprid, Rivastigmina, e Galantamina.

Em mais modalidades adicionais, o agente neurogênico adicio-

nal pode ser um modulador de um receptor de androgênio. Os exemplos não limitativos incluem os agonistas de receptor de androgênio deidroepiandrosterona (DHEA) e sulfato de DHEA (DHEAS).

Obviamente, uma terapia de combinação pode também ser aquela de um agente neurogênico da invenção com uma terapia que não seja à base de substância química. Os exemplos não limitativos incluem o uso de psicoterapia para o tratamento das muitas condições descritas neste documento, tais como as condições psiquiátricas, bem como a terapia de modificação do comportamento, tal como aquele uso em conexão com um programa de perda de peso.

Tendo agora descrito de modo geral a invenção, a mesma será mais prontamente entendida através de referência aos exemplos a seguir, que são proporcionados como forma de ilustração, e não são pretendidos serem limitativos da presente invenção, a não ser que especificado.

15 EXEMPLOS

Exemplo 1 - Efeito sobre a diferenciação neuronal de células-tronco neurais humanas

As células-tronco neurais humanas (hNSCs) foram isoladas e desenvolvidas em cultura de monocamada, preparadas sobre placas, tratadas com concentrações variadas de MKC-231 (composto de teste), e coloridas com anticorpo TUJ-1, conforme descrito no Pedido Provisório U.S. Nº 60/697.905 (incorporado por referência). O meio de teste sem mitógeno com um controle positivo para a diferenciação neuronal foi usado juntamente com o meio basal sem fatores do crescimento como um controle negativo.

Os resultados são mostrados na Figura 1, que mostra as curvas de resposta à dose da diferenciação neuronal após os valores do meio de base serem subtraídos. A curva de resposta à dose do controle positivo neuronal está incluída como uma referência. O dado é apresentado como uma porcentagem de controle positivo neuronal. Os dados indicam que o MKC-231 promoveu a diferenciação neuronal acima dos níveis de base.

Exemplo 2 - Efeito sobre a diferenciação de astrócitos de hNSCs

Os experimentos foram realizados conforme descrito no Exem-

plo 1, exceto que o controle positivo para a diferenciação de astrócitos continha meio de teste sem mitógeno com controle positivo para a diferenciação de astrócitos, e as células foram coloridas com anticorpo GFAP.

Os resultados são mostrados na Figura 2, que mostra as curvas de resposta à dose da diferenciação de astrócitos após os valores do meio de base serem subtraídos. O MKC-231 não mostrou nenhum aumento significativo na diferenciação de astrócitos acima dos valores do meio basal.

Exemplo 3 - Efeito tóxico/trófico sobre as células-tronco neurais humanas

Os experimentos foram realizados conforme descrito no Exemplo 1, exceto que as células foram coloridas com um corante nuclear (Hoechst 33342).

Os resultados são mostrados na Figura 3. O dado nela é mostrado como uma porcentagem da contagem de células do meio basal. As concentrações que são tóxicas incidem abaixo de 80% da contagem das células basal. Os compostos tróficos mostram aumentos dependentes da dose na contagem de células. O MKC-231 não mostrou nenhuma toxicidade em concentrações até 31,6 μM .

Exemplo 4 - Efeito do MKC-231 em combinação com um agonista de AMPA sobre a diferenciação de células-tronco neurais humanas

Os experimentos com diversas concentrações de MKC-231 sozinho ou com 0,316 μM de um agonista de AMPA (AMPA) foram realizados, em geral, conforme descrito no Exemplo 1 para a diferenciação neuronal. Os resultados são mostrados na Figura 4, que mostra as curvas de resposta à dose para a diferenciação neuronal, após os valores do meio de base serem subtraídos. 0,316 μM do agonista de AMPA, AMPA, aumenta o estímulo da diferenciação neuronal pelo agente neurogênico MKC-231. Estes dados demonstram que o agonista de AMPA atua como um potenciador ou sensibilizador da diferenciação neuronal mediada pelo MKC-231. Os dados também indicam que o MKC-231 aparentemente exerce algo de seu efeito neurogênico como um potenciador ou sensibilizador de AMPA. Também ver a Figura 6 em relação ao BCI-540 em combinação com o AMPA e a diferenciação neuronal.

Exemplo 5 - Efeito do MKC-231 em combinação com um antagonista de AMPA sobre a diferenciação de células-tronco neurais humanas

Os experimentos com diversas concentrações de MKC-231 sozinho ou com 1,0 μ M de um antagonista de AMPA (NBQX) foram realizados, em geral, conforme descrito no Exemplo 1 para a diferenciação neuronal. Os resultados são mostrados na Figura 7, que mostra as curvas de resposta à dose para a diferenciação neuronal, após os valores do meio de base serem subtraídos. 1,0 μ M do antagonista de AMPA NBQX inibe o estímulo da diferenciação neuronal pelo agente neurogênico MKC-231. Estes dados demonstram que um antagonista de AMPA atua como um inibidor da diferenciação neuronal mediada pelo MKC-231. Os dados também indicam que o MKC-231 exerce algo de seu efeito neurogênico como através da ativação do receptor de AMPA.

Exemplo 6 - Efeito sobre a neurogênese hipocampal em rato

O BCI-540 foi administrado a ratos machos F344 por gavagem oral, uma vez ao dia, por 28 dias (1,0 e 4,0 mg/kg/dia, p.o.). O BrdU foi administrado uma vez ao dia, por 5 dias (dias 9 a 14, 100 mg/kg/dia, i.p.). Os animais foram sacrificados no dia 28. Os cérebros foram removidos e processados para avaliação da neurogênese.

A Figura 8 mostra a alteração na neurogênese comparada ao controle de veículo ($\pm$ SEM). O eixo y representa a porcentagem de alteração comparada ao controle de veículo. O eixo x indica o tratamento com o veículo ajustado para 100% (barra preta) e o BCI-540 dosado a 1,0 e 4,0 mg/kg/dia (barras pretas com hachuras). A linha preta indica 100% de controle de veículo. A administração diária de 1,0 e 4,0 mg/kg de BCI-540 por 28 dias resultou em um aumento estatisticamente significativo em novos neurônios dentro da camada de células de grânulos do giro denteado.

Exemplo 7 - Efeito na alimentação suprimida pela novidade no rato

O BCI-540 foi administrado aos ratos machos F344 por gavagem oral, uma vez ao dia, por 21 dias (1,0 mg/kg/dia, p.o.). A fluoxetina foi administrada por gavagem oral, uma vez ao dia, por 21 dias (10 mg/kg/dia, p.o.). O BrdU foi administrado uma vez ao dia, por 5 dias (dias 9 a 14, 100

mg/kg/dia, i.p.). Os animais foram testados após 21 dias de administração do fármaco.

É mostrada na Figura 9 a alteração na latência de comer comparada ao controle de veículo ($\pm$ SEM). O eixo y representa a porcentagem de alteração comparada ao controle de veículo. O eixo x indica o tratamento. O veículo é ajustado para 100%. A linha preta indica 100% de controle de veículo. A administração por 21 dias do BCI-540 e da fluoxetina resultou em uma diminuição estatisticamente significativa na latência de comer a pelota de alimento, indicativa da atividade antidepressiva.

10 Exemplo 8 - Efeito tóxico/trófico sobre as células-tronco neurais humanas

O BCI-540 foi administrado aos ratos machos Sprague Dawley por gavagem oral, uma vez ao dia, por 21 dias (1,0 mg/kg/dia, p.o.). Como um controle positivo, o ansiolítico diazepam (1,5 mg/kg, i.p.) foi administrado uma vez, 30 minutos antes do teste.

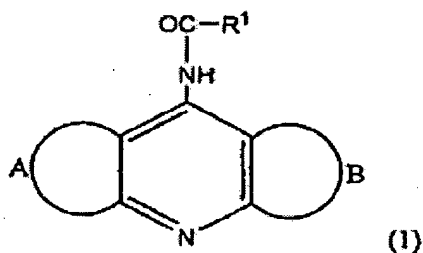
15 A Figura 10 mostra a alteração na porcentagem de tempo gasto sobre os braços abertos para os grupos tratados com BCI-540 e diazepam ($\pm$ SEM). O eixo y representa a porcentagem de tempo sobre o braço aberto. O eixo x indica o tratamento com o veículo (barra preta), o diazepam de controle positivo (barra cinza), e os animais tratados com BCI-540 (barras pretas com hachuras) ($n = 15$ /grupo). A administração crônica de BCI-540 resulta em um aumento significativo no tempo gasto sobre os braços abertos, o que é indicativo de atividade ansiolítica. O BCI-540 demonstrou eficácia ansiolítica comparável ao diazepam administrado de modo agudo.

20 Exemplo 9 - Imunoistoquímica com marcadores neuronais e de astrócitos

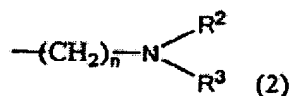
25 A imunoistoquímica foi realizada conforme descrito no Pedido Provisório U.S. Nº 60/697.905 (incorporado por referência), usando o TUJ-1 como o marcador de células neuronais e o GFAP como um marcador de astrócitos. Os resultados são mostrados na Figura 5, com as imagens de controle incluídas na parte superior para referência, e as células tratadas com 30 31,6 μ M de MKC-231 sozinhas mostradas na parte inferior à esquerda e a combinação de 31,6 μ M de MKC-231 com 0,316 μ M de AMPA mostrada na parte inferior à direita.

Exemplo 10 - Agentes neurogênicos ilustrativos

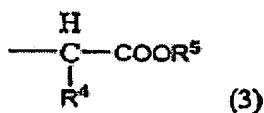
Este exemplo proporciona os derivados de 4-acilaminopiridina representativos, para uso nos diversos aspectos e modalidades da invenção, conforme divulgados acima e abaixo. Um derivado de 4-acilaminopiridina da
5 invenção é representado pela seguinte fórmula (1):



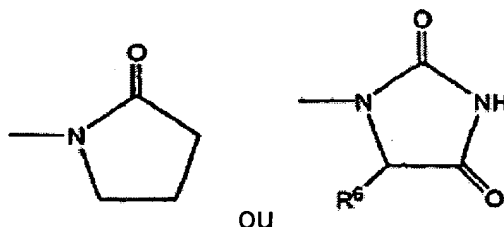
onde R¹ representa um grupo C₂ - C₆ alquila ou um grupo representado pela seguinte fórmula (2):



onde cada um de R² e R³ independentemente representa um átomo de hidrogênio, um grupo C₁-C₆ alquila, um grupo C₃-C₆ cicloalquila ou um grupo
10 representado pela seguinte fórmula (3)



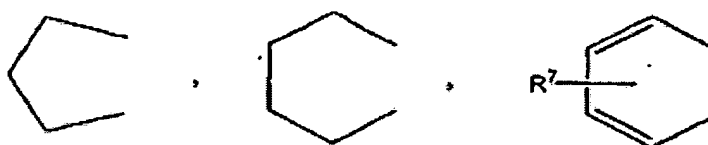
onde cada um de R₄⁴ e R⁵ independentemente representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C₁-C₆ alquila, ou R² e R³, juntamente com o átomo de nitrogênio ao qual ambos R² e R³ estão unidos, representam



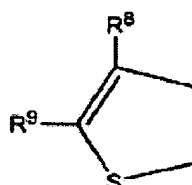
onde R⁶ representa um átomo de hidrogênio ou grupo C₁-C₆ alquila, e n re-
15 presenta 0 ou um número inteiro de 1 a 3; e



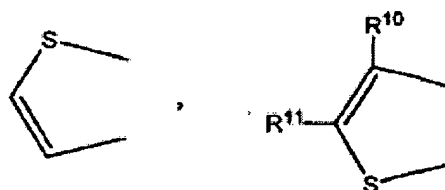
representa



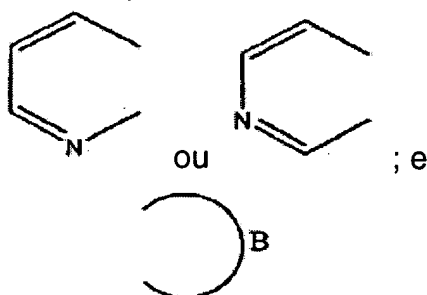
onde R^7 representa um átomo de hidrogênio, um grupo C_1 - C_6 alquila ou átomo de halogênio,



5 onde cada um de R^8 e R^9 independentemente representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C_1 - C_4 alquila,



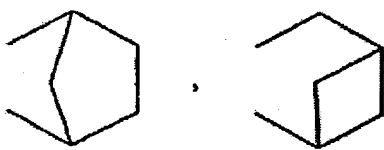
onde cada um de R^{10} e R^{11} independentemente representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C_1 - C_4 alquila,



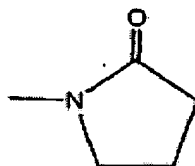
representa



10 onde cada um de R^{12} e R^{13} independentemente representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C_1 - C_4 alquila ou R^{12} e R^{13} podem ser combinados conjuntamente para formar um grupo C_2 - C_6 alquilenos,



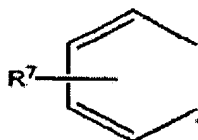
- com a condição que quando R^1 for um grupo C_2-C_6 alquila ou um grupo representado pela fórmula (2), onde um de R^2 e R^3 é um átomo de hidrogênio ou um grupo C_1-C_6 alquila e o outro de R^2 e R^3 é um átomo de hidrogênio ou $--CH_2COOR^5$, onde R^5 é o mesmo como definido acima, ou R^2 e R^3 , juntamente com o átomo de nitrogênio ao qual ambos R^2 e R^3 estão unidos, representam
- 5



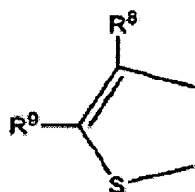
e n é 1 ou 2,



não seja



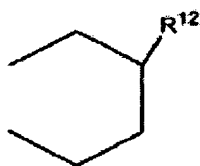
onde R^7 é o mesmo como definido acima, ou não seja



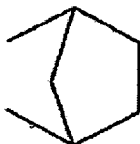
- 10 onde R^9 é o mesmo como definido acima; e



não seja



onde R^{12} representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C_1 - C_4 alquila ou não seja



Na fórmula (1), os exemplos não limitativos de um grupo C_2 - C_6 alquila (ou grupo alquila tendo 2 a 6 átomos de carbono) representado por R^1 incluem os que seguem: o grupo etila, o grupo n-propila, o grupo isopropila, o grupo n-butila, o grupo sec-butila, o grupo terc-butila, o grupo n-pentila e o grupo n-hexila podem ser mencionados. Em algumas modalidades, um grupo C_2 - C_4 alquila é usado nos métodos e na prática da invenção.

Os exemplos não limitativos de um grupo C_1 - C_6 alquila representado por cada um de R^2 a R^7 incluem os seguintes: grupo metila, grupo etila, grupo n-propila, grupo isopropila, grupo n-butila, grupo sec-butila, grupo terc-butila, grupo n-pentila e grupo n-hexila. Em algumas modalidades, um grupo C_1 - C_4 alquila é usado nos métodos e na prática da invenção.

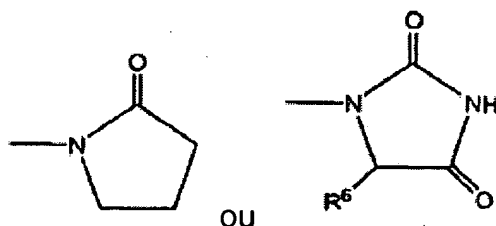
Os exemplos não limitativos de um grupo C_3 - C_6 cicloalquila representado por cada um de R^2 e R^3 incluem os que seguem: grupo ciclopropila, grupo ciclobutila, grupo ciclopentila e grupo ciclohexila.

Um átomo de halogênio representado por R^7 é selecionado a partir de um átomo de flúor, átomo de cloro, átomo de bromo e átomo de iodo.

Os exemplos não limitativos de um grupo C_1 - C_4 alquila representado por cada um de R^8 a R^{13} incluem os que seguem: grupo metila, grupo etila, grupo n-propila, grupo isopropila, grupo n-butila, grupo sec-butila e grupo terc-butila.

Entre os compostos representados pela fórmula (I), e em algumas modalidades da invenção, um composto onde R^1 representa um grupo C_2 - C_6 alquila ou um grupo representado pela fórmula (2), onde R^2 representa

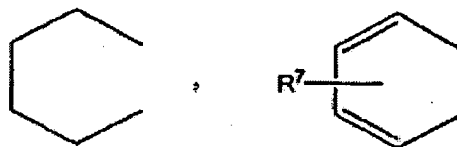
- um átomo de hidrogênio ou um grupo C₁-C₆ alquila, R³ representa um átomo de hidrogênio, um grupo C₁-C₆ alquila, um grupo C₃-C₆ cicloalquila ou um grupo representado pela fórmula (3), onde cada um de R⁴ e R⁵ independentemente representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C₁-C₆ alquila, ou
- 5 R² e R³, juntamente com o átomo de nitrogênio ao qual ambos R² e R³ estão unidos, representam



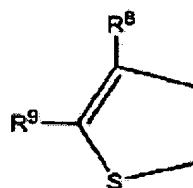
onde R⁶ representa um átomo de hidrogênio ou grupo C₁-C₆ alquila, e n representa 0 ou um número inteiro de 1 a 3; e



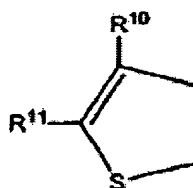
representa



- 10 onde R⁷ representa um átomo de hidrogênio, um grupo C₁-C₆ alquila ou átomo de halogênio,



onde cada um de R⁸ e R⁹ independentemente representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C₁-C₄ alquila, ou



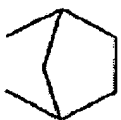
- onde cada um de R¹⁰ e R¹¹ independentemente representa um átomo de
- 15 hidrogênio ou um grupo C₁-C₄ alquila; e



representa



onde cada um de R^{12} e R^{13} independentemente representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C_1 - C_4 alquila ou R^{12} e R^{13} podem ser combinados conjuntamente para formar um grupo C_2 - C_6 alquilenos, ou

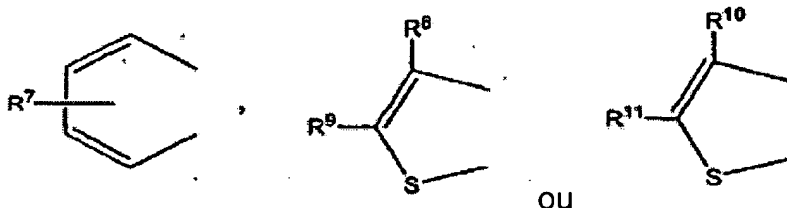


5

É mais preferido um composto onde



representa



onde R^7 a R^{11} são como definidos acima.

Além das moléculas acima representadas, os sais de ácidos farmacologicamente aceitáveis adicionados das moléculas são também proporcionados pela presente invenção. Em algumas modalidades, o sal de ácido adicionado de um composto representado pela fórmula (1) é farmacêutica e fisiologicamente aceitável. Como exemplos não limitativos, os sais de ácidos inorgânicos adicionados, tais como cloridrato, bromidrato, iodidrato, sulfato e fosfato, e os sais de ácidos orgânicos adicionados, tais como oxalato, maleato, fumarato, lactato, malato, citrato, tartarato, benzoato, metanosulfonato e canforassulfonato, são proporcionados. O composto representado pela fórmula (1) e o seu sal de ácido adicionado podem estar presentes

na forma de hidrato ou solvato. O hidrato e o solvato podem também ser usados nos métodos e na prática da presente invenção.

Os métodos para a preparação do acima mencionado são proporcionados na Patente U.S. 5.397.785, que é, pelo presente, incorporada por referência. O exemplo 25 nela refere-se à preparação do MKC-231.

Exemplo 11 - Composições ilustrativas e dosagens

Além da descrição das composições descritas acima, a presente invenção adicionalmente proporciona composições adicionais compreendendo um agente neurogênico aqui contido. A composição pode opcionalmente incluir um agente neurogênico adicional, conforme descrito acima. Em algumas modalidades, a composição compreende uma quantidade farmacologicamente eficaz de um derivado de 4-acilaminopiridina representado pela fórmula (1), como descrita acima, ou um seu sal de ácido farmacologicamente aceitável adicionado, e um adjuvante farmacologicamente aceitável.

Um composto neurogênico da presente invenção pode ser usado como um agente terapêutico ou medicamento por sua administração isoladamente ou em uma mistura com um veículo farmacologicamente aceitável. Opcionalmente, o composto pode ser formulado com um ou mais agentes neurogênicos adicionais, como descritos neste documento. A composição pode ser determinada de um modo habitual por uma pessoa versada no campo, com base na solubilidade e na propriedade do composto a ser usado como o ingrediente ativo, na rota de administração e no regime de dosagem. Como um exemplo não limitativo, o composto da presente invenção pode ser administrado oralmente na forma de grânulo, grânulo refinado, pó, comprimido, cápsula dura, cápsula mole, xarope, emulsão, suspensão e solução. O composto da presente invenção pode ser também administrado de modo intravenoso, intramuscular ou subcutâneo, por injeção. O composto da presente invenção pode ser preparado em um pó injetável e injetado após dissolução ou suspensão em um solvente apropriado, quando usado.

O composto pode ser usado com um veículo ou diluente, orgânico ou inorgânico, sólido ou líquido, que seja adequado para administração oral, intestinal, parenteral ou local. Como exemplos não limitativos de um

veículo para uma preparação sólida, proporcionam-se a lactose, a sacarose, o amido, o talco, a celulose, a dextrina, o caulim e o carbonato de cálcio. Uma preparação líquida para a administração oral, isto é, emulsão, xarope, suspensão, solução, etc., pode conter um diluente, tal como a água, o óleo vegetal, etc., como exemplos não limitativos. A preparação líquida pode conter um auxiliar, tal como um umectante, agente de suspensão, agente adoçante, aromático, agente corante, conservante, etc., além de um diluente inerte. Em algumas modalidades, a preparação líquida pode ser encapsulada em uma substância de parede absorvível, tal como a gelatina. Como um solvente ou um agente de suspensão usado para preparar uma preparação parenteral, tal como uma preparação de injeção, podem ser usados a água, o propileno glicol, o polietileno glicol, o álcool benzílico, o oleato de etila e a lecitina. A preparação de tais composições pode ser conduzida com o uso de técnicas padrões, conhecidas para a pessoa versada.

15 A dosagem clínica diária do composto da presente invenção na administração oral pode ser de cerca de 1 a cerca de 1000 mg, tal como cerca de 10 a cerca de 100 mg para um adulto. A pessoa versada pode determinar que é desejável aumentar ou diminuir a dose, dependendo da idade do paciente, da condição da doença, da condição do paciente, e se um outro medicamento ou agente ativo é administrado ou não. A dose diária do composto da presente invenção pode ser administrada em uma, ou em duas ou três porções, com intervalos de tempo apropriados no meio. A administração intermitente pode também ser usada.

25 A dosagem diária do composto da presente invenção na injeção pode ser de cerca de 0,1 a cerca de 100 mg, tal como de cerca de 0,5 a cerca de 50 mg para um adulto.

Ademais, os compostos da invenção são de toxicidade muito baixa e produzem poucos efeitos colaterais.

Exemplo 12 - Formas de cristais ilustrativas

30 As formas de cristais puras ou essencialmente puras de um derivado de 4-acilaminopiridina podem também ser usadas nos métodos e na prática da invenção. Em algumas modalidades, uma forma de cristal de N-

(2,3-dimetil-5,6,7,8-tetraidrofur[2,3-b]quinolin-4-il)-2-(2-oxopirrolidin-1-il)acetamida (ou MKC-231), como descrita na Patente U.S. 6.884.805, é usada no método e na prática da invenção. O cristal pode ser o cristal de forma A ou de forma B. A patente também proporciona uma descrição para a
5 preparação, incluindo a preparação em solventes fisiologicamente aceitáveis, das formas de cristal.

O cristal de forma A é caracterizado por um ou mais do que se segue: (i) um ponto de fusão obtido a partir de uma curva de calorimetria de varredura diferencial menor do que cerca de 220°C, particularmente um ponto de fusão obtido a partir de uma curva de calorimetria de varredura diferencial de cerca de 217,6°C, (ii) um pico no ângulo de difração de raios X, 2 θ , de 9,8° ($\pm$ 0,2°), (iii) a ausência de um pico no ângulo de difração de raios X, 2 θ , de 7,3° ($\pm$ 0,2°), (iv) uma solubilidade em água de menos do que cerca de 0,5 mg/mL, particularmente uma solubilidade em água de cerca de 0,35
10 mg/mL, e (v) estabilidade maior na armazenagem do que o cristal de forma B.

O cristal de forma B é caracterizado por um ou mais do que se segue: (i) um ponto de fusão obtido a partir de uma curva de calorimetria de varredura diferencial maior do que cerca de 220°C, particularmente um ponto de fusão obtido a partir de uma curva de calorimetria de varredura diferencial de cerca de 222,6°C, (ii) um pico no ângulo de difração de raios X, 2 θ , de 7,3° ($\pm$ 0,2°), (iii) a ausência de um pico no ângulo de difração de raios X, 2 θ , de 9,8° ($\pm$ 0,2°), (iv) uma solubilidade em água de mais do que cerca de 0,5 mg/mL, particularmente uma solubilidade em água de cerca de 0,73
20 mg/mL, e (v) uma estabilidade menor na armazenagem do que o cristal de forma A.

A forma de cristal pode estar na forma de uma substância farmacêutica de volume compreendendo o cristal de forma A ou de forma B. Além disso, a invenção inclui uma composição farmacêutica compreendendo um veículo farmaceuticamente aceitável e o cristal de forma A ou o de forma B.
30 B.

Em maior detalhe, o cristal de forma A é caracterizado por um ou

mais do que se segue: (a) um ponto de fusão (início extrapolado) obtido a partir de uma curva de calorimetria de varredura diferencial menor do que cerca de 220°C, tal como na faixa de cerca de 213-220°C, ou na faixa de cerca de 215-220°C, na faixa de cerca de 216-218°C, na faixa de cerca de 218°C, e na faixa de cerca de 217,6°C, (b) pelo menos um pico no espectro de difração de raios X, no ângulo de difração, 2θ , de 8,7°, 9,8°, 11,4°, 13,3°, 15,5°, 16,8°, e/ou 17,6° ($\pm 0,2^\circ$, respectivamente), tal como pelo menos um pico no espectro de difração de raios X, no ângulo de difração, 2θ , de 9,8° ($\pm 0,2^\circ$), (c) a ausência de um pico (levando-se em consideração o ruído de linha de base e as variações entre os instrumentos) no ângulo de difração de raios X, 2θ , de 7,3°, 9,3°, 11,9°, e/ou 14,8° ($\pm 0,2^\circ$, respectivamente), (d) uma solubilidade em água (a 25°C) de menos do que cerca de 0,5 mg/mL, tal como na faixa de cerca de 0,1-0,5 mg/mL, na faixa de cerca de 0,2-0,45 mg/mL, na faixa de cerca de 0,3-0,4 mg/mL, e na faixa de cerca de 0,35 mg/mL, e (e) uma estabilidade melhor na temperatura ambiente (cerca de 25°C) e durante a armazenagem (com o tempo) do que o cristal de forma B.

O cristal de forma B é caracterizado por um ou mais do que se segue: (a) um ponto de fusão (início extrapolado) obtido a partir de uma curva de calorimetria de varredura diferencial maior do que cerca de 220°C, tal como na faixa de cerca de 220-225°C, na faixa de cerca de 221-224°C, na faixa de cerca de 222-223°C, na faixa de cerca de 223°C, e na faixa de cerca de 222,6°C, (b) pelo menos um pico no espectro de difração de raios X, no ângulo de difração, 2θ , de 7,3°, 9,3°, 11,9°, 13,5°, 14,8°, 15,9°, 17,5°, e/ou 18,6° ($\pm 0,2^\circ$, respectivamente), tal como pelo menos um pico no espectro de difração de raios X, no ângulo de difração, 2θ , de 7,3° ($\pm 0,2^\circ$), (c) a ausência de um pico (levando-se em consideração o ruído de linha de base e as variações entre os instrumentos) no ângulo de difração de raios X, 2θ , de 8,7°, 9,8°, e/ou 16,8° ($\pm 0,2^\circ$, respectivamente), (d) uma solubilidade em água (em torno de 25°C) de mais do que cerca de 0,5 mg/mL, tal como na faixa de cerca de 0,5-1 mg/mL, na faixa de cerca de 0,6-0,9 mg/mL, na faixa de cerca de 0,7-0,8 mg/mL, e na faixa de cerca de 0,73 mg/mL, e (e) uma estabilidade menor na temperatura ambiente (cerca de 25°C) e durante a armazenagem

(com o tempo) do que o cristal de forma A.

A invenção adicionalmente proporciona as formas de cristal A e B de MKC-231 estáveis, puras ou essencialmente puras. As formas de cristal podem ser preparadas com boa reprodutibilidade usando um solvente fisiologicamente compatível, tal como o etanol, a água, ou uma mistura deles. O termo "essencialmente pura" indica que o cristal de forma A ou o cristal de forma B contém menos do que cerca de 10% em peso da outra forma polimorfa, tal como menos do que cerca de 5% em peso da outra forma polimorfa. Idealmente, as porcentagens precedentes referem-se a qualquer outra forma polimorfa na medida em que possam existir formas polimorfas diferentes da forma A e da forma B, como descritas neste documento.

Uma forma de cristal pode ser usada em uma composição farmacêutica compreendendo um veículo farmacêuticamente aceitável (por exemplo fisiologicamente aceitável ou farmacologicamente compatível) para o tratamento das doenças, dos distúrbios, ou das condições descritas neste documento. As formas de cristais da invenção (e suas composições farmacêuticas), portanto, são úteis em um método de tratar um mamífero, particularmente um ser humano, com uma doença.

A rota para a administração do cristal de forma A ou forma B da invenção não está particularmente limitada. A forma de cristal pode ser administrada de modo oral ou parenteral, opcionalmente enquanto permanecendo na forma de cristal. Alternativamente, ela é administrada como uma composição farmacêutica contendo o ingrediente ativo e os aditivos, os quais são farmacêuticamente aceitáveis (por exemplo, farmacologicamente compatíveis). A escolha do veículo será determinada, em parte, tanto pela composição particular quanto pelo método particular usado para administrar a composição, conforme descrita acima.

Os aditivos farmacêuticamente aceitáveis podem ser empregados. Os exemplos não limitativos incluem os veículos, os desintegrantes, os auxiliares de desintegração, os aglutinantes, os lubrificantes, os agentes de revestimento, os pigmentos, os diluentes, as bases, os agentes de dissolução, os auxiliares de dissolução, os agentes de isotonicidade, os reguladores

do pH, os estabilizantes, os propulsores, e os adesivos. Os exemplos não limitativos de preparações adequadas para a administração oral incluem os comprimidos, as cápsulas, os pós, os grânulos finos, os grânulos, as soluções e os xaropes. Os exemplos não limitativos de preparações adequadas para a administração parenteral incluem as injeções, as gotas, os ungüentos, os cremes, os agentes que absorvem de modo percutâneo, os colírios, as gotas para os ouvidos, os inalantes e os supositórios. As formulações podem ser apresentadas em recipientes vedados de dose de unidade ou de múltiplas doses, tais como as ampolas e os frascos pequenos, e podem ser armazenadas em uma condição de dessecadas por congelamento (liofilizadas), requerendo somente a adição do veículo líquido estéril, por exemplo, a água, para injeções, imediatamente antes do uso. A forma da preparação da composição farmacêutica não está restrita àquelas citadas neste documento.

Podem ser adicionados veículos adicionais às preparações adequadas para a administração oral. Os veículos de aditivos adequados incluem a glicose, a lactose, o D-manitol, o amido e a celulose cristalina; os desintegrantes ou os auxiliares de desintegração, tais como a carboximetil celulose, o amido e o sal cálcico de carboximetil celulose; os aglutinantes, tais como a hidroxipropil celulose, a hidroxipropilmetil celulose, a poli (vinil pirrolidona) e a gelatina; os lubrificantes, tais como o estearato de magnésio e o talco; os agentes de revestimento, tais como a hidroxipropilmetil celulose, a sacarose, o polietileno glicol e o óxido de titânio; e as bases, tais como a Vaselina, a parafina líquida, o polietileno glicol, a gelatina, o caulim, a glicerina, a água purificada e a gordura dura. Os aditivos típicos para as preparações adequadas para as injeções ou os colírios incluem os agentes de dissolução ou os auxiliares de dissolução que podem constituir injeções aquosas ou dissolvidas antes do uso, tais como a água destilada para injeção, as soluções salinas fisiológicas e o propileno glicol; os agentes de isotonicidade, tais como a glicose, o cloreto de sódio, o D-manitol e a glicerina; os reguladores do pH, tais como os ácidos inorgânicos, os ácidos orgânicos, os sais inorgânicos, e os sais orgânicos.

A dosagem do medicamento da invenção pode ser apropriada-

mente aumentada ou diminuída, dependendo da doença, do propósito do tratamento (por exemplo, prevenção ou tratamento), e das condições do paciente, tais como a idade, o peso, e os sintomas. Entretanto, em geral, a dosagem diária para um paciente adulto por administração oral é cerca de 0,05 a cerca de 500 mg por dia. Em geral, a dosagem antes mencionada pode ser administrada uma vez, diversas vezes cada dia, ou todos os diversos dias.

As formas de cristal podem ser adicionalmente entendidas por referência às seguintes referências: Chaki e col., *Bioorganic & Medical Chemistry Letters*, 5(14), 1489-1494 (1995); Chaki e col., *Bioorganic & Medical Chemistry Letters*, 5(14), 1495-1500 (1995); Bessho e col., *Arznein.Forsch./Drug Res.*, 46(I), 369-373 (1996); Murai e col., *J. Neuron. Transm. [GenSect]*, 98, 1-13 (1994); e Akaike e col., *Jpn. J. Pharmacol.*, 76, 219-222 (1998).

Todas as referências citadas neste documento, incluindo as patentes, os pedidos de patentes, e as publicações, são, pelo presente, incorporadas por referência em suas totalidades, quer tenham sido anterior e especificamente incorporadas, quer não tenham.

Tendo agora descrito inteiramente esta invenção, será apreciado por aqueles versados na técnica que a mesma pode ser efetuada dentro de uma ampla faixa de parâmetros, concentrações, e condições equivalentes, sem sair do espírito e do escopo da invenção e sem experimentação indevida.

Embora esta invenção tenha sido descrita em conexão com as suas modalidades específicas, será entendido que ela é capaz de modificações adicionais. Este pedido é pretendido cobrir quaisquer variações, usos, ou adaptações da invenção seguindo, em geral, os princípios da invenção e incluindo tais afastamentos da presente divulgação, conforme venham dentro da prática conhecida ou costumeira dentro da técnica à qual a invenção diz respeito e conforme possam ser aplicados às características essenciais acima descritas.



PI0707557-0

REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratar um distúrbio do sistema nervos relacionado à degeneração celular, uma condição psiquiátrica, trauma e/ou lesão celular, ou uma outra condição neurologicamente relacionada em um paciente ou

5 enfermo, o dito método compreendendo:

administrar um derivado de 4-acilaminopiridina ao dito paciente ou enfermo.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, onde o dito distúrbio do sistema nervoso relacionado à degeneração celular é selecionado a partir
10 de um distúrbio neurodegenerativo, um distúrbio das células-tronco neurais, um distúrbio das células progenitoras neurais, uma doença degenerativa da retina, um distúrbio isquêmico, e suas combinações.

3. Método de acordo com a reivindicação 1, onde o dito distúrbio do sistema nervoso relacionado a uma condição psiquiátrica é selecionado a
15 partir de um distúrbio neuropsiquiátrico, um distúrbio afetivo, depressão, hipomania, ataques de pânico, ansiedade, elação excessiva, depressão bipolar, distúrbio bipolar (maníaco-depressivo), distúrbio de humor (ou afetivo) periódico, esquizofrenia e outras psicoses, síndrome de lissencefalia, síndromes de ansiedade, distúrbios de ansiedade, fobias, estresse e síndromes
20 relacionadas, distúrbios de função cognitiva, agressão, abuso de drogas e álcool, síndromes de comportamento obsessivo compulsivo, distúrbio limítrofe de personalidade, demência não senil, depressão pós-dor, depressão pós-parto, paralisia cerebral, e suas combinações.

4. Método de acordo com a reivindicação 3, onde o dito distúrbio
25 do sistema nervoso relacionado a uma condição psiquiátrica é selecionado a partir do grupo que consiste em depressão, depressão bipolar, distúrbio bipolar (maníaco-depressivo), depressão pós-dor e depressão pós-parto.

5. Método de acordo com a reivindicação 1, onde o dito distúrbio do sistema nervoso relacionado ao trauma e/ou à lesão celular é seleciona-
30 do a partir de traumas e lesões neurológicas, trauma e/ou lesão relacionados a cirurgias, lesão e trauma da retina, lesão relacionada à epilepsia, lesão do cordão espinhal, lesão do cérebro, cirurgia do cérebro, lesão do cérebro re-

lacionada a trauma, trauma relacionado à lesão do cordão espinhal, lesão do cérebro relacionada a tratamento de câncer, lesão do cordão espinhal relacionada a tratamento de câncer, lesão do cérebro relacionada à infecção, lesão do cérebro relacionada à inflamação, lesão do cordão espinhal relacionada à infecção, lesão do cordão espinhal relacionada à inflamação, lesão do cérebro relacionada à toxina ambiental, lesão do cordão espinhal relacionada à toxina ambiental, e suas combinações.

6. Método de acordo com a reivindicação 1, onde a dita condição neurologicamente relacionada é selecionada a partir de distúrbios de aprendizagem, distúrbios de memória, autismo, distúrbios de déficit de atenção, narcolepsia, distúrbios do sono, distúrbios cognitivos, epilepsia, epilepsia do lobo temporal, e suas combinações.

7. Método de acordo com a reivindicação 3, onde a dita condição psiquiátrica compreende a depressão.

8. Método de acordo com a reivindicação 7, onde o dito método adicionalmente compreende administrar um agente antidepressivo ao dito paciente ou enfermo.

9. Método de acordo com a reivindicação 7, onde a dita depressão é devida ao uso de morfina pelo paciente ou enfermo.

10. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-9 onde o dito derivado de 4-acilaminopiridina é a 2-(2-oxipirrolidin-1-il)-N-(2,3-dimetil-5,6,7,8-tetraidrofuró(2,3-b)quinolin-4-il)acetoamida.

11. Método de acordo com a reivindicação 10, onde o dito derivado de 4-acilaminopiridina está em uma forma de cristal.

12. Método de acordo com a reivindicação 10, onde o dito derivado de 4-acilaminopiridina está em uma composição farmacologicamente aceitável.

13. Método de preparar células ou tecido para o transplante em um paciente ou enfermo, o dito método compreendendo:

estimular ou aumentar a neurogênese na dita célula ou tecido por contato da dita célula ou tecido com um derivado de 4-acilaminopiridina.

14. Método de estimular ou aumentar a neurogênese em uma

célula ou tecido, o dito método compreendendo:

contatar a dita célula ou tecido com um derivado de 4-acilaminopiridina.

5 15. Método de acordo com a reivindicação 13, onde a dita célula ou tecido está em um paciente animal ou um paciente humano.

16. Método de acordo com a reivindicação 15, onde o dito paciente está necessitado de neurogênese ou foi diagnosticado com uma doença, condição, ou lesão do sistema nervoso central ou periférico.

10 17. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 14-16, onde o dito método adicionalmente compreende contatar a dita célula ou tecido com um agente neurogênico opióide ou não opióide.

18. Método de acordo com a reivindicação 17, onde o dito agente neurogênico não opióide é um ligante de receptor muscarínico, tal como a sabcomelina.

15 19. Método de acordo com a reivindicação 14, onde a dita neurogênese compreende a diferenciação das células-tronco neurais (NSCs) com uma linhagem neuronal.

20 20. Método de acordo com a reivindicação 14, onde a dita neurogênese compreende a diferenciação das células-tronco neurais (NSCs) com uma linhagem glial.

21. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 17-20, onde o dito opióide é um antagonista de receptor de opióide capa.

22. Método de acordo com a reivindicação 21, onde o dito opióide é um antagonista seletivo do receptor de opióide capa.

25 23. Método de acordo com a reivindicação 22, onde o dito opióide é selecionado a partir de JDTic, norbinaltorfimina, e buprenorfina.

24. Método de acordo com a reivindicação 15 ou 16, onde a dita célula ou tecido exhibe neurogênese diminuída ou é submetido a um agente que diminui ou inibe a neurogênese.

30 25. Método de acordo com a reivindicação 24, onde o dito agente que diminui ou inibe a neurogênese é um agonista de receptor de opióide.

26. Método de acordo com a reivindicação 25, onde o dito ago-

nista é a morfina ou um outro opiato.

27. Método de acordo com a reivindicação 15 ou 16 onde o dito paciente ou enfermo tem um ou mais vícios ou dependências químicas.

FIG. 1

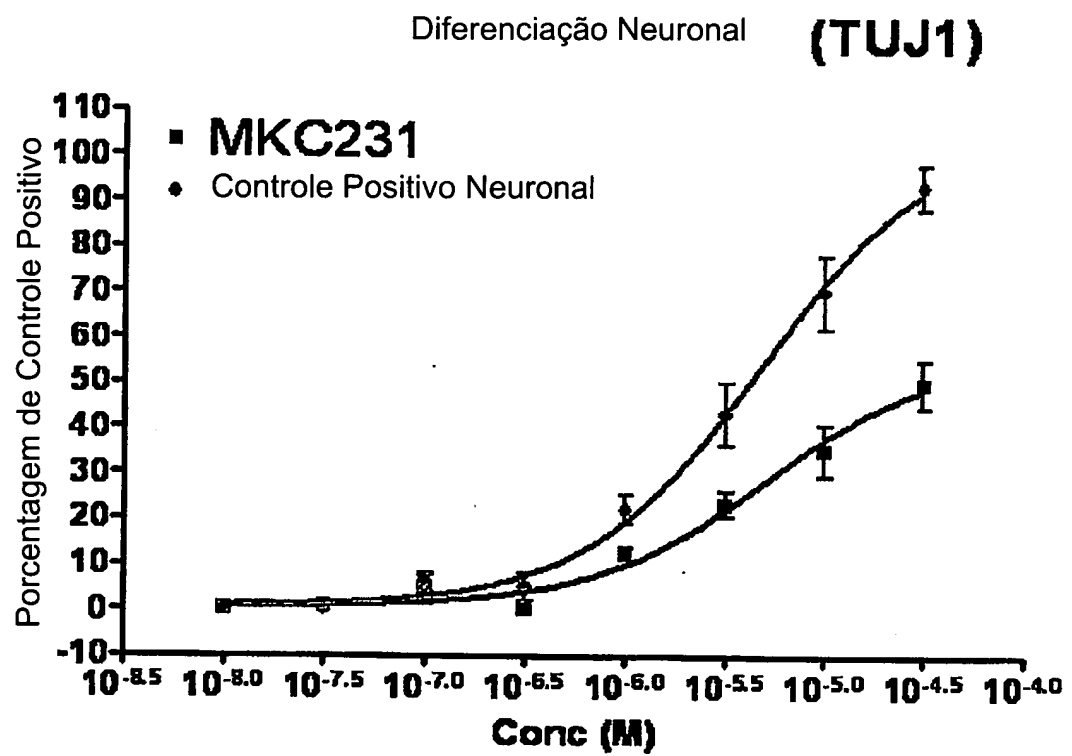


FIG. 2

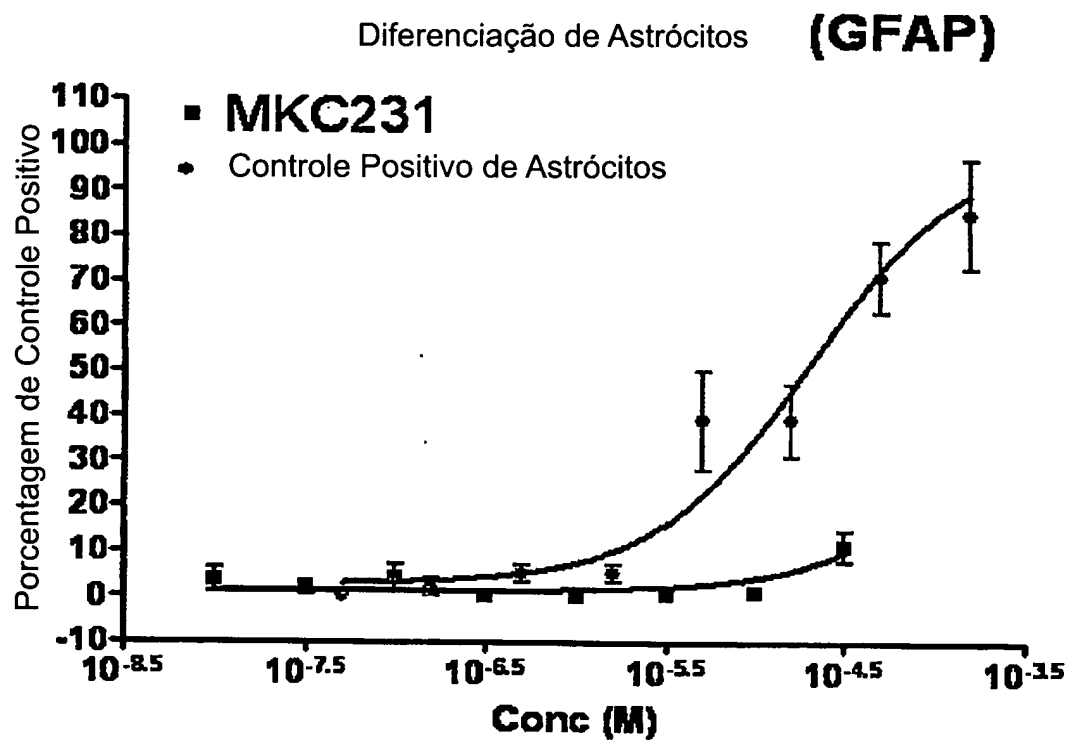


FIG. 3

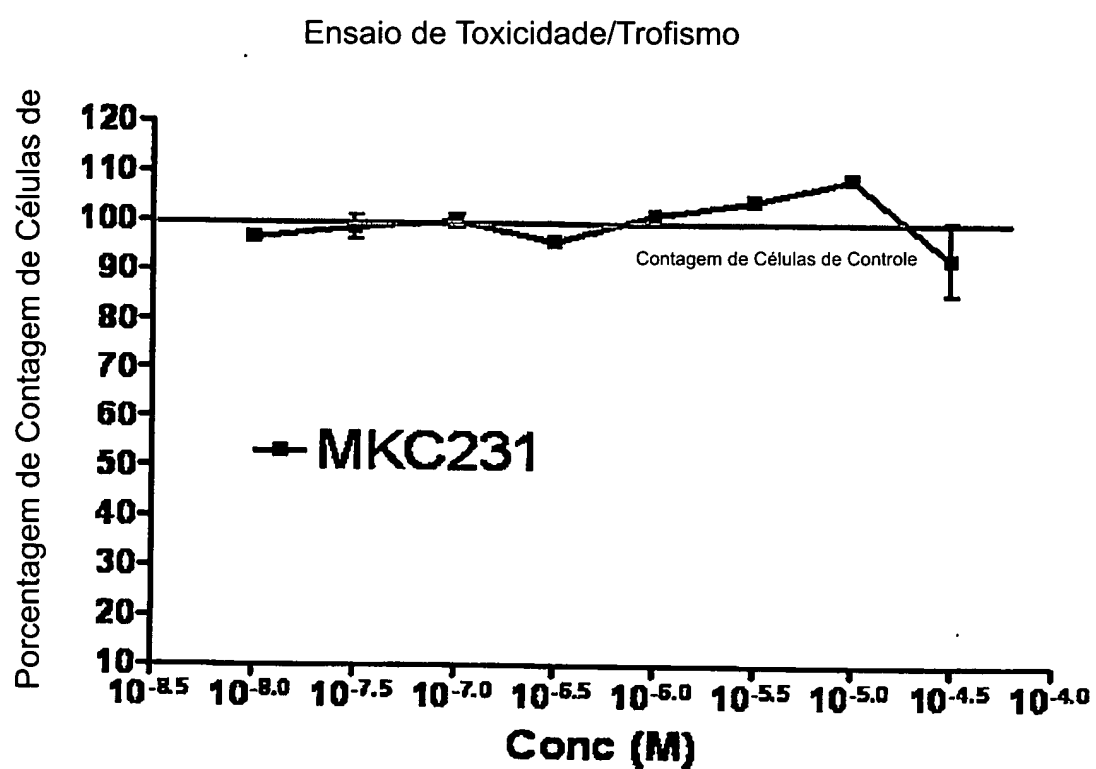
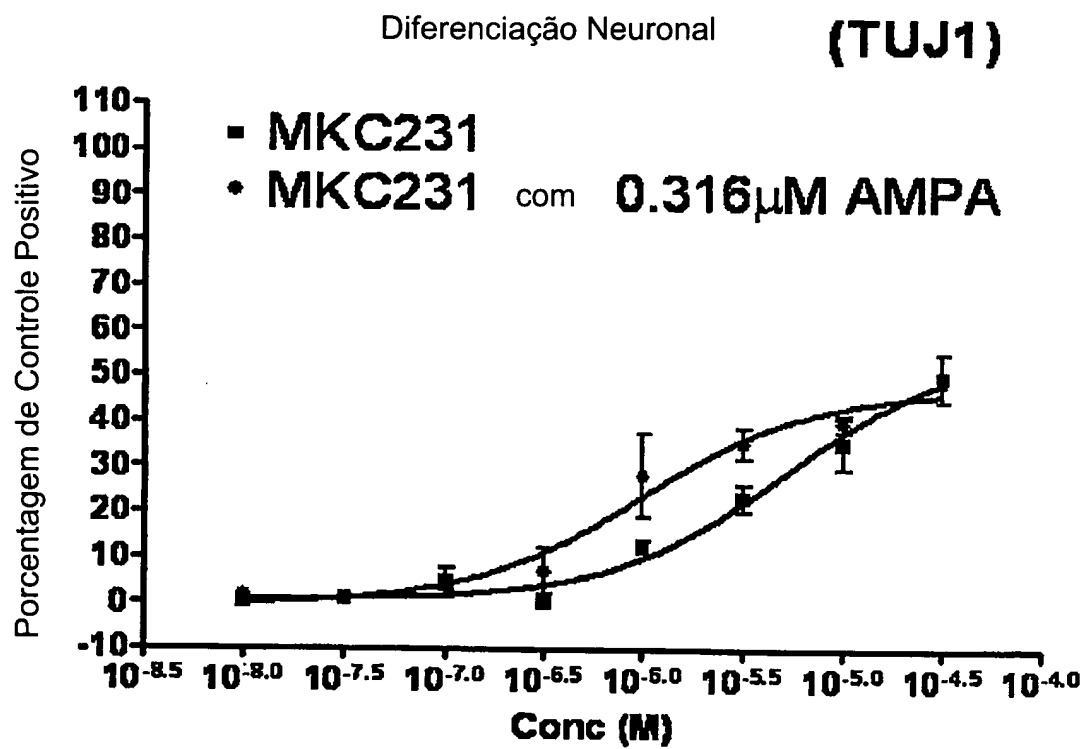


FIG. 4



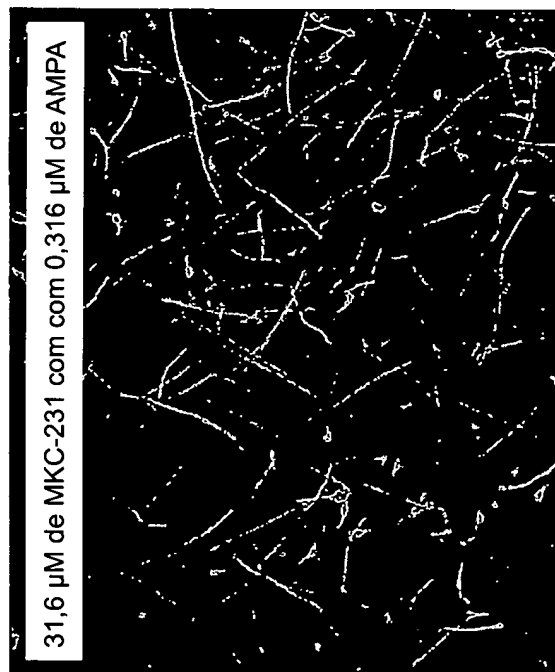
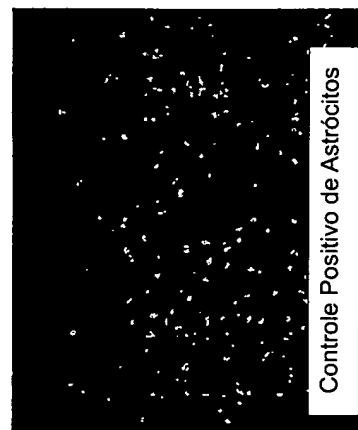
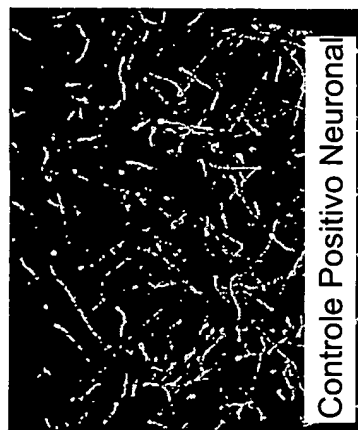
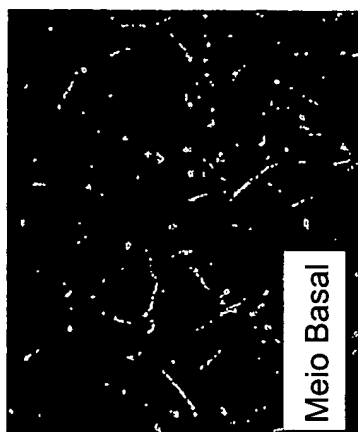


FIG. 5

FIG. 6

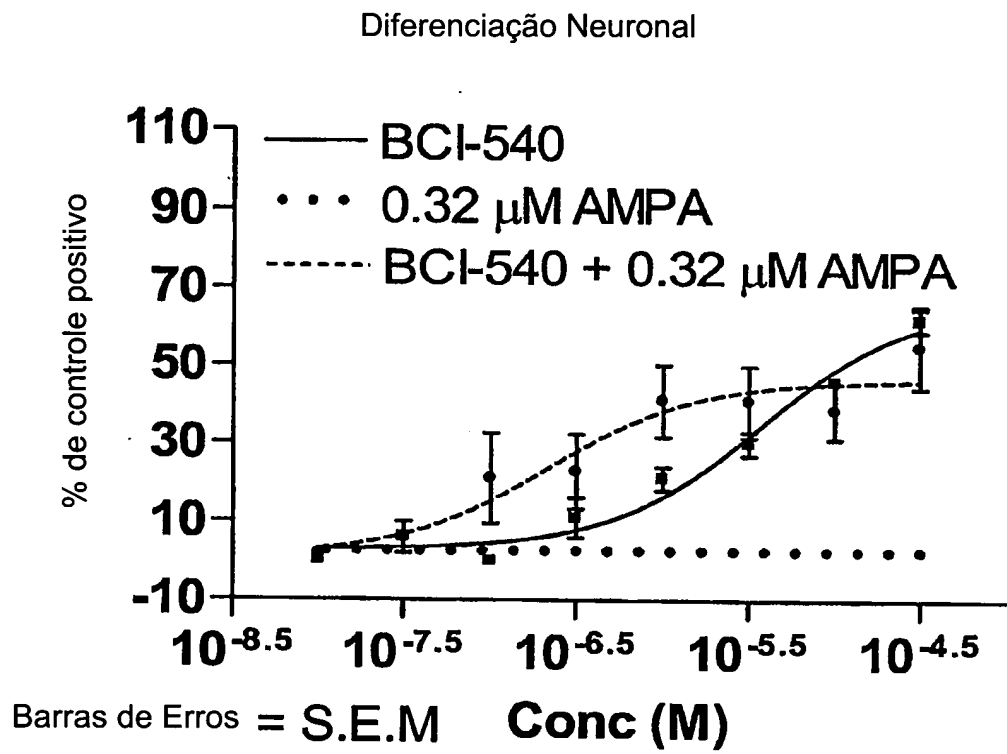


FIG. 7

Diferenciação Neuronal

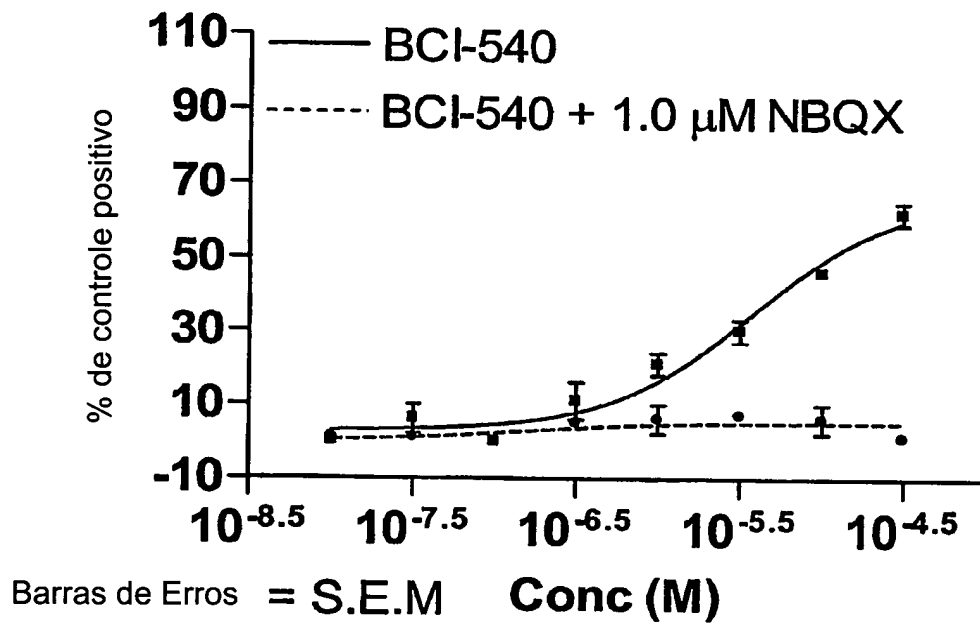


FIG. 8

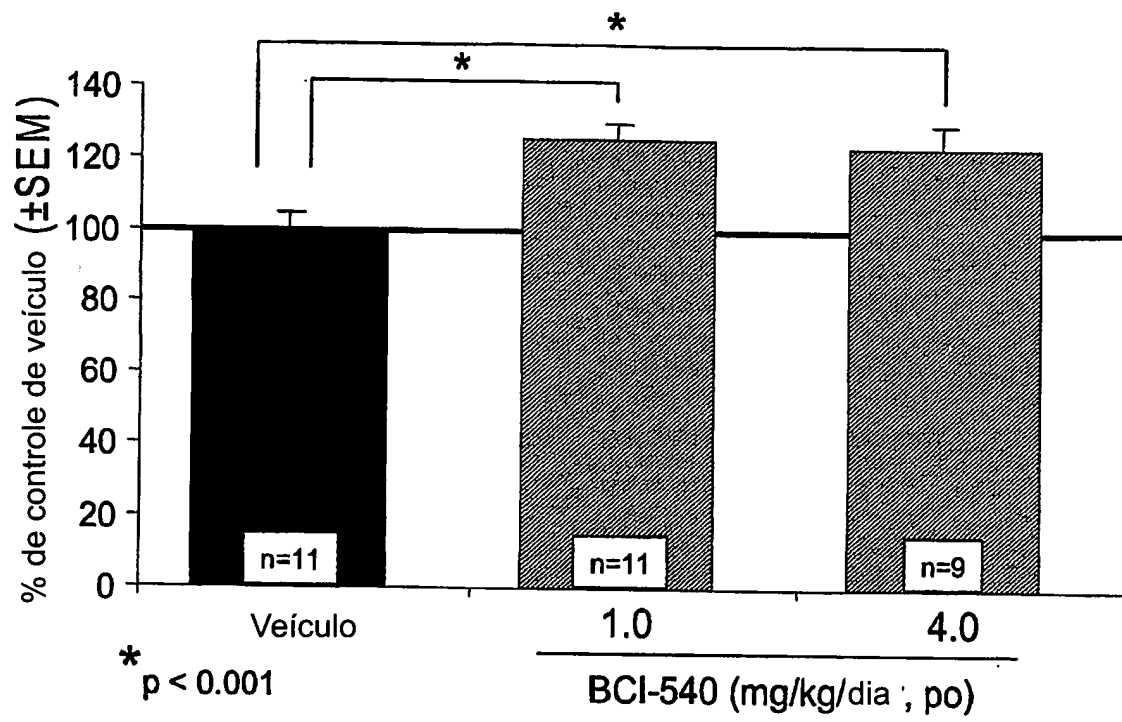


FIG. 9

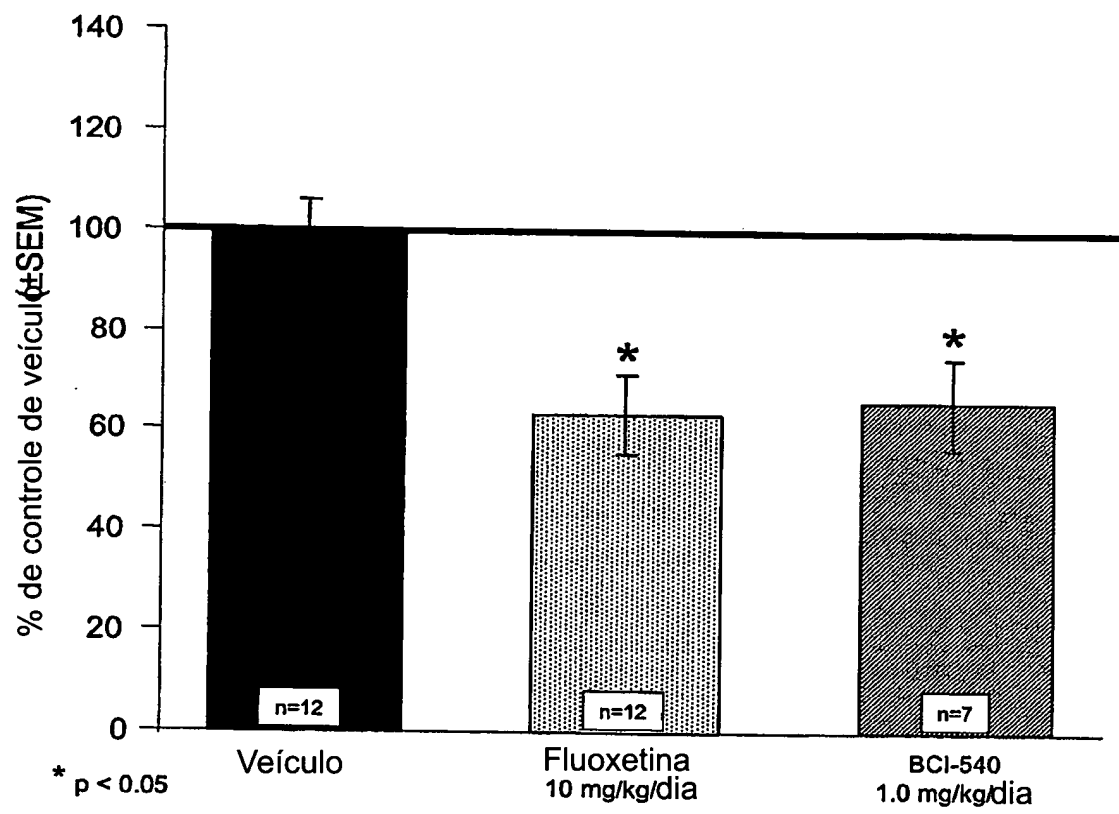
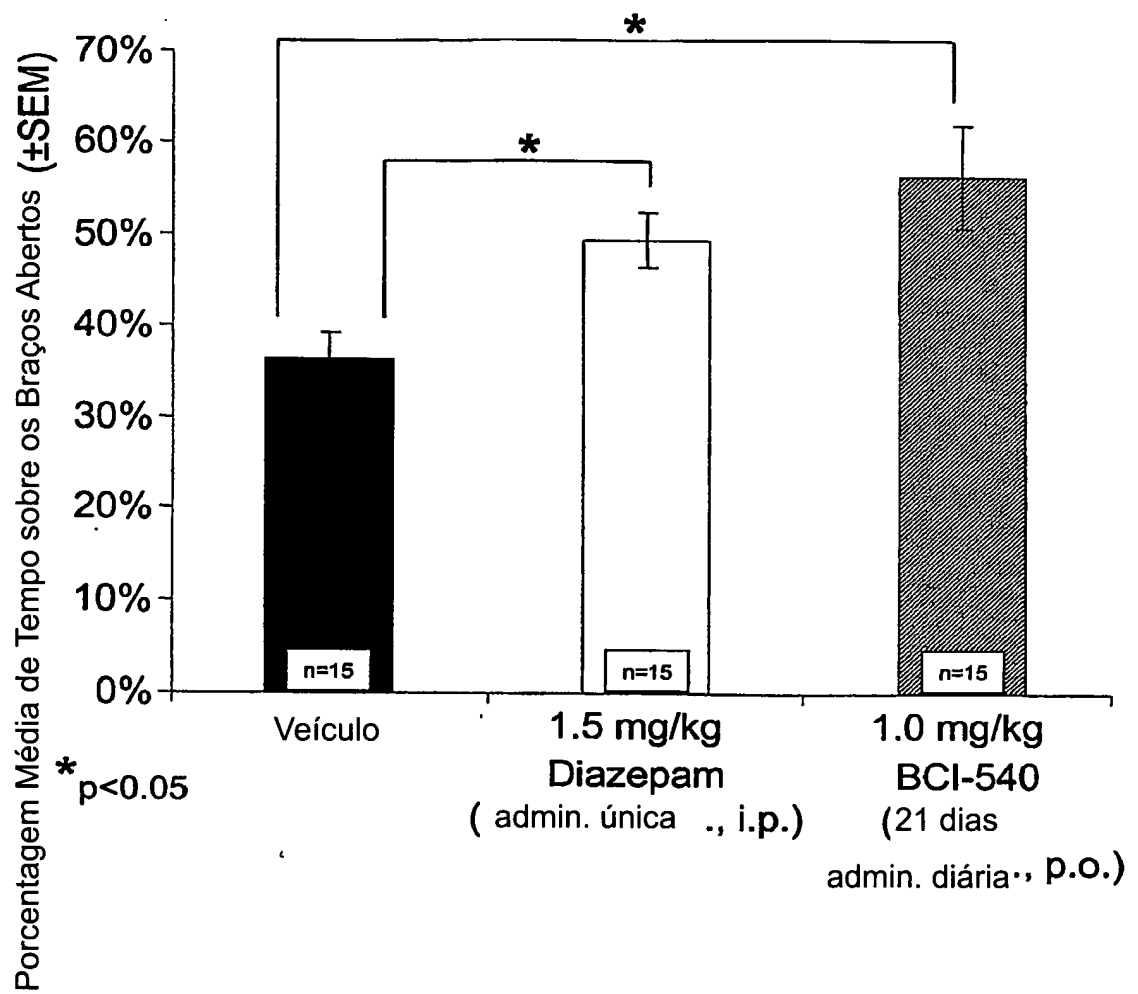


FIG. 10



RESUMO

Patente de Invenção: **"NEUROGÊNESE MEDIADA POR DERIVADO DE 4-ACILAMINOPIRIDINA"**.

- 5 A presente invenção refere-se a métodos para tratar doenças e condições do sistema nervoso central e periférico por estímulo ou aumento da neurogênese. A invenção inclui métodos baseados no uso de um derivado de 4-acilaminopiridina para estimular ou ativar a formação de novas células nervosas.