

(11) *Número de Publicação:* PT 768312 E

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
C07D487/14 A C07D498/22 B
A61K031/40 B C07D487/14 C
C07D209:00 C C07D209:00 C

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) *Data de depósito:* 1993.07.26

(30) *Prioridade:* 1992.07.24 US 920102

(43) *Data de publicação do pedido:*
1997.04.16

(45) *Data e BPI da concessão:*
2000.09.06

(73) *Titular(es):*

KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.
NO 6-1 1-CHOME Ohte Machi Chiyoda-Ku Tokyo JAPÃO
JP

CEPHALON, INC.
145 BRANDYWINE PARKWAY WEST CHESTER, PA 19380 US

(72) *Inventor(es):*

NICOLA NEFF US
CHIKARA MURAKATA JP
YUZURU MATSUDA JP
JAMES C. KAUER US
MARCIE GLICKSMAN US

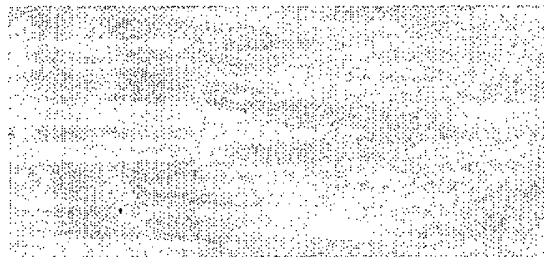
(74) *Mandatário(s):*

ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA
RUA DAS FLORES 74 4/AND. 1294 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* DERIVADOS DE BIS-ESTAUROESPORINA E K-252A

(57) *Resumo:*

DERIVADOS DE BIS-ESTAUROESPORINA E K-252A



DESCRIÇÃO

“Derivados de bis-estauroesporina e K-252a”

Antecedentes do invento

As proteína-quinases são uma grande classe de enzimas que actuam modificando quimicamente muitas proteínas celulares, por fosforilação de aminoácidos.

Os inibidores das proteína-quinases são estruturalmente variados e têm efeitos variados (e muitas vezes contraditórios) no sistema nervoso e outros tecidos. Um determinado inibidor de proteína-quinase poderá influenciar mais do que uma proteína-quinase. Por exemplo, foi inicialmente descrito que o K-252a, um material do tipo alcalóide, isolado a partir do caldo de cultura de Nocardioopsis sp. e Actinomadura sp. era um inibidor da proteína-quinase C, mas verificou-se subsequentemente que este inibe também as proteína-quinases A e G, a quinase da cadeia leve de miosina e a trk (uma tirosina-quinase activada pelo factor de crescimento nervoso [NGF], sendo esta última uma proteína neurotrófica que promove a sobrevivência dos neurónios periféricos, sensoriais e simpáticos). Em consistência com este último efeito, o K-252a bloqueia as acções neurotróficas do NGF em células PC-12 (células de cromafina de tumores medulares adrenais de rato, feocromocitomas) e promove a sobrevivência de neurónios ganglionares da raiz dorsal e neurónios do hipocampo. No entanto, verificou-se que este é tóxico numa grande variedade de concentrações, levando alguns investigadores a concluir que tem uma utilidade limitada in vivo.

Um alcalóide microbiano relacionado com o K-252a, a estauroesporina, também tem uma variedade de efeitos em diferentes proteína-quinases e tipos de células. Verificou-se que a estauroesporina tem efeitos do tipo NGF em células PC-12 e que protege o hipocampo de gerbilho do dano após isquemia. Consegue também inverter o dano de neurónios colinérgicos no cérebro basal de rato.

O K252a e a estauroesporina foram propostos como inibidores de tumores. A estauroesporina tem sido comercializada como insecticida. Produziram-se derivados de estauroesporina, com um substituinte hidrocarbilo ou acilo no azoto da metilamina, e estes foram propostos para a inibição de tumores, inibição da inflamação, imunomodulação e tratamento de doenças dos sistemas nervoso cardiovascular e central.

Nabeshima *et al.*, em *The Journal and Exp. Therapeutics*, 257: 562-6 (1991), descrevem que a utilização de estaurosporina inverte parcialmente a actividade reduzida de acetil-transferase.

Sumário do invento

De acordo com um aspecto do presente invento, utiliza-se um derivado funcional de K-252a para produzir um medicamento para utilização na potenciação, num mamífero, da função de um neurónio dos corpos estriados. Os derivados funcionais utilizados neste invento são os compostos respectivos, de fórmulas II, III e IV, definidos na reivindicação 1.

Descrição do invento

O invento proporciona um meio para potenciar a função dos neurónios dos corpos estriados, por administração a um mamífero, *e.g.* um humano, de uma quantidade terapêutica de um dos derivados de K-252a. A terapia pode ser fornecida em conjunção com um factor neurotrófico, de preferência um membro da família neurotrófica, e mais preferencialmente o factor de crescimento nervoso (NGF). A família neurotrófica é um grupo de proteínas com homologia significativa com o NGF e inclui, além do NGF, o factor neurotrófico derivado de cérebro (BDNF; Leibrock *et al.*, *Nature*, 341: 149-152, 1989); neutrófilo-3 (NT-3; Hohn *et al.*, *Nature*, 344: 339-341, 1990); e neurotrófico-5 (NT-5; Berkemeier *et al.*, *Neuron*, 7: 857-866, 1991).

O termo “potenciar a função de neurónios dos corpos estriados” significa promover a sobrevivência de células nervosas dos corpos estriados e/ou o crescimento (*e.g.* axonal) de fibras nervosas e/ou melhorar a actividade das células nervosas nos corpos estriados. A terapia poderá envolver o tratamento quando os neurónios dos corpos estriados são danificados, comprometidos, sofrem degeneração axonal, ou estão em risco de morrer.

Os compostos utilizados no presente invento podem ser formulados em composições farmacêuticas, por mistura com excipientes e veículos não tóxicos, farmacêuticamente aceitáveis. Estes compostos são úteis para a administração a humanos, ou outros mamíferos que sofrem de doenças ou distúrbios neurológicos caracterizados por um risco aumentado de morte ou disfunção de células neuronais.

Estas doenças e distúrbios neurológicos incluem, mas não se limitam a: doença de Alzheimer; doença dos neurónios motores incluindo esclerose lateral amiotrófica; doença de Parkinson, enfarte ou outros danos isquémicos, doença de Huntingdon; demência



relacionada com SIDA, epilepsia; danos concussivos ou penetrantes do cérebro ou espinal medula; e neuropatias periféricas.

O derivado funcional de K-255a utilizado neste invento pode possuir uma solubilidade, absorção, transporte (*e.g.* através da barreira sangue-cérebro e membranas celulares), semi-vida biológica etc., melhorados. Alternativa ou adicionalmente, algumas modificações podem diminuir a toxicidade da molécula, ou eliminar, ou atenuar qualquer efeito lateral indesejado da molécula.

As composições podem ser preparadas para utilização em administração parentérica, particularmente na forma de soluções ou suspensões líquidas; para administração oral, particularmente na forma de comprimidos ou cápsulas; ou para utilização intranasal, particularmente na forma de pós, gotas nasais ou aerossóis.

A composição pode ser convenientemente administrada na forma de dosagem unitária e pode ser preparada por qualquer dos métodos bem conhecidos na arte farmacêutica, por exemplo, como descrito em *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Pub. Co, Easton, PA, 1980). As formulações para administração parentérica podem conter como excipientes comuns, água ou solução salina estéreis, polialquilenoglicóis como polietilenoglicol, óleos de origem vegetal, naftalenos hidrogenados e semelhantes. Em particular, o polímero de láctido biocompatível, biodegradável, copolímero de láctido/glicólico ou copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno, podem ser úteis como excipientes para controlar a libertação dos compostos activos. Outros sistemas de fornecimento parentérico potencialmente úteis para estes compostos activos, incluem partículas de copolímero de etileno-acetato de vinilo, bombas osmóticas, sistemas de infusão implantáveis e lipossomas. As formulações para administração por inalação contêm como excipientes, por exemplo, lactose, ou podem ser soluções aquosas que contêm, por exemplo, éter de polioxietileno-9-laurilo, glicocolato e desoxicolato ou soluções oleosas para administração na forma de gotas nasais, ou como um gel para aplicação intranasal. As formulações para administração parentérica podem também incluir glicocolato para administração bucal, metoxissalicilato para administração rectal, ou ácido cítrico para administração vaginal.

O material útil no presente invento pode ser utilizado como o único agente activo num medicamento, ou pode ser utilizado em combinação com outros ingredientes activos, *e.g.* outros factores de crescimento que podem facilitar a sobrevivência neuronal ou crescimento axonal em doenças ou desordens neurológicas, por exemplo, neuropatia periférica.

A concentração dos compostos aqui descritos numa composição terapêutica, dependerá de vários factores, incluindo a dosagem de droga a ser administrada, as características químicas (*e.g.* hidrofobicidade) dos compostos utilizados e a via de administração. Em termos gerais, os compostos úteis no presente invento podem ser fornecidos em solução tampão fisiológica aquosa, contendo cerca de 0,1 a 10% p/v do composto para administração parentérica. A gama de dosagem típica varia entre cerca de 1 µg/kg a cerca de 1 g/kg de peso corporal por dia; uma gama de dose preferida é entre cerca de 0,01 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal por dia. A dosagem preferida de droga a ser administrada dependerá provavelmente de variáveis como o tipo e grau de progressão da doença neurológica, do estado geral de saúde do paciente particular, da eficácia biológica relativa do composto seleccionado, da formulação dos excipientes do composto e da sua via de administração.

Os derivados funcionais de K-252a utilizados no invento podem ser preparados *de novo* por síntese química, utilizando métodos conhecidos dos peritos na arte. Por exemplo, na US-A-4923986 estão descritos processos utilizados para a preparação de compostos de fórmula II. Em Moody *et al.*, *J. Org. Chem.*, 57: 2105-2114 (1992); Steglich *et al.*, *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, 19: 459-460 (1980); Nakanishi *et al.*, *J. Antibiotics*, 39: 1066-1071 (1986); e pedido de Patente Japonesa Nº 60-295172 (1985), estão descritos processos utilizados na preparação de compostos de fórmula III. Estão descritos outros métodos para os compostos II-1, 9, 12 e 15 no pedido de Patente Japonesa Nº 60-295173 (1985); para os compostos II-2, 3, 4, 24, 25 e 26 no pedido de patente Japonesa Nº 62-327858 (1987); para o composto II-20 no pedido de patente Japonesa Nº 62-327859 (1987); para o composto II-10 no pedido de patente Japonesa Nº 60-257652 (1985); e para os compostos II-4, II-14, II-49, II-38, II-39, II-51, II-56, IV-2 e II-45 na Patente Europeia Nº 0651754.

Os exemplos seguintes ilustram a utilidade dos compostos para utilização no presente invento.

Exemplo 1

Avaliou-se o K252a quanto à sua capacidade de promover a sobrevivência em cultura de células dos corpos estriados. A sobrevivência celular foi medida através da absorção de calceína AM, um análogo do corante de viabilidade, o diacetato de fluoresceína. A calceína é absorvida pelas células viáveis e clivada intracelularmente em sais fluorescentes, que são retidos pelas membranas intactas das células viáveis. As contagens microscópicas de neurónios viáveis correlacionam-se directamente com os valores de fluorescência relativa obtidos no teste fluorimétrico de viabilidade. Este método proporciona assim uma medida



quantitativa e de confiança da sobrevivência celular na população total de células, numa dada cultura.

Dissecaram-se os corpos estriados de embriões de rato de 17 dias e as células foram dissociadas por Dispase (protease neutral, Collaborative Research). Semearam-se os neurónios a 5×10^4 /poço ($1,5 \times 10^5/\text{cm}^2$) em placas de 96 poços, em poços previamente revestidos com poli-l-ornitina e laminina. Fez-se a cultura de células em meio N2 isento de soro, contendo 0,05% de albumina de soro bovino (Bottenstein e Sato, 1979) a 37°C , numa atmosfera humidificada, a 5% de CO_2 /95% de ar.

A sobrevivência dos neurónios dos corpos estriados foi aumentada pelo K-252a de um modo dependente da concentração. Observou-se uma actividade máxima com K-252a 75nM, que produziu uma eficácia de 3-4 vezes em relação ao controlo (Figura 1). Nas culturas de controlo, 90% dos neurónios plaqueados no dia 0 morreram dentro de 5 dias, enquanto que em culturas tratadas com K-252a, 50% dos neurónios sobreviveram (Figura 2). O efeito de sobrevivência em neurónios dos corpos estriados ocorreu após 3 dias em cultura e foi mantido durante pelo menos 7 dias em cultura. Estes resultados são de uma única aplicação de K-252a no dia do início da cultura, indicando um efeito sustentado na sobrevivência de uma determinada população de neurónios.

A Figura 3 é um par de fotomicrografias tiradas a culturas de controlo, de culturas tratadas com K-252a 75nM. Houve um aumento na sobrevivência celular e crescimento de neurites nestas culturas, na presença de K-252a 75nM.

Exemplo 2

A Figura 4 mostra o efeito do HBCS na degeneração neuronal induzida por kainato no hipocampo. Ratos fêmea Sprague-Dawley receberam, por meio de cânula, $0,8 \mu\text{g}$ de HBCS, ou veículo, 40 minutos antes e cerca de 4 horas após o kainato ($0,6 \mu\text{g}$), por infusão icv. Duas semanas mais tarde, os cérebros foram excisados, congelados, seccionados e corados para análise histológica, como descrito a seguir. Os dados apresentados são o número médio de sub-regiões do hipocampo danificado, para cada grupo \pm SEM. O HBCS reduziu significativamente o número de áreas danificadas no hipocampo, desde cerca de $2,5 \pm 0,6$ (sem HBCS) a $1,3 \pm 0,5$ (com tratamento com HBCS).

O efeito de K-252a ou dos seus derivados no dano neuronal induzido por kainato foi avaliado como se segue: Anestesiaram-se ratos Sprague-Dawley adultos, macho ou fêmea (175-250 g) com Nembutal (50 mg/kg, ip) e administrou-se um tratamento com droga ou

veículo, num total de 5 μ l, antes e depois do tratamento com kainato (5 μ l) por infusão icv, utilizando uma dose e programa de infusão como acima indicado. Os animais de controlo receberam veículo em vez de infusão de kainato e de droga. Para os estudos anatómicos, as infusões icv foram fornecidas através de uma cânula (Plastic One, Roanoke, VA) implantada aproximadamente uma semana antes das infusões de droga e posicionada em coordenadas estereotáxicas: anterior-posterior no bregma, 1,5 mm lateralmente em relação ao bregma e a 4,4 mm ventralmente em relação ao topo do crânio. Os resultados deste tratamento foram avaliados duas semanas mais tarde, utilizando as análises anatómicas a seguir descritas.

Em estudos para determinar o efeito de K-252a ou dos seus derivados, na proteólise de espectrina induzida por kainato, forneceu-se a ratos anestesiados uma infusão de 5 μ l da droga, ou veículo, em simultâneo com o kainato, através de uma seringa Hamilton de 10 μ l, posicionada nas coordenadas estereotáxicas acima descritas. Estes ratos foram mortos 24 horas mais tarde e submetidos a análise bioquímica, como a seguir-descrito.

A análise anatómica foi realizada como se segue. Os ratos foram mortos por decapitação 2 semanas após os tratamentos e os cérebros foram rapidamente removidos e congelados em gelo seco. Corou-se uma série de secções coronais de cada cérebro, montadas em lâmina, com tionina e estas foram examinadas num microscópio. O dano no hipocampo foi quantificado somando o número total de 4 regiões do hipocampo anatomicamente definidas (CA1-4 de acordo com a classificação de Lorente de No, como descrito por Shepard, 1979, *The Synaptic Organization of the Brain*, Oxford, p. 130) em ambos os lados esquerdo e direito do cérebro, que sofreram uma perda de células piramidais.

A análise bioquímica foi realizada como se segue. Avaliou-se a proteólise de espectrina de cérebro (fodrina) sensível a calpaína-I, em homogenatos do hipocampo, utilizando uma análise de imunotransferência descrita por Siman *et al.* (1988, *Neuron*, 1: 279-287). Em resumo, os ratos foram mortos por decapitação, 24 horas após o tratamento e o hipocampo dorsal foi rapidamente dissecado do cérebro e homogeneizado em Tris-HCl 20mM (pH7,4) contendo fluoreto de fenilmetilsulfonilo 0,1 mM. Separaram-se as proteínas de alíquotas de cada homogenado por SDS-PAGE e utilizou-se uma análise de imunotransferência para quantificar a quantidade de degradação de espectrina induzida por kainato, em cada amostra.

Exemplo 3

Testaram-se trinta e um derivados funcionais de K-252a, para determinar a sua potência e eficácia num teste de sobrevivência de células dos corpos estriados do Exemplo 2.



A tabela seguinte mostra os dados de 18 derivados de K-252a que promoveram a sobrevivência dos neurónios dos corpos estriados.

Composto	% de sobrevivência de corpos estriados K-252a		
	25 nM	75 nM	100 nM
K-252a		100	
III-1	69	NT	-
II-1	61	NT	104
II-35	52	81	-
II-20	58	-	NT
II-10	91	-	NT
II-28	-	90	-
II-5	104	NT	-
II-29	64	NT	-
II-2	65	-	NT
II-3	50	104	-
II-30	-	114	NT
II-6	81	NT	-
II-31	92	-	NT
II-32	69	NT	-
IV-3	-	NT	47
IV-1	-	NT	66
II-33	-	82	NT
II-34	118	NT	-

NT = não testado a essa concentração

- = não activo a essa concentração

A seguir ilustra-se o efeito do K-252a e dos seus derivados funcionais no teste ChAT da espinal medula, para determinar a sua eficácia relativa. Analisou-se a actividade da colina acetil-transferase (ChAT) em culturas de espinal medula dissociadas, preparadas a partir de ratos fetais, por métodos convencionais (veja-se a seguir). A ChAT é a enzima que catalisa a síntese do neurotransmissor acetilcolina e é um marcador bioquímico específico para os neurónios colinérgicos. Na medula espinal, a grande maioria dos neurónios colinérgicos são neurónios motores. O teste desta enzima pode assim ser utilizado como uma indicação dos efeitos de um factor (ou factores), na sobrevivência de neurónios colinérgicos e/ou regulação desta enzima.

As experiências com culturas dissociadas de células fetais de medula espinal de ratos foram realizadas de um modo geral como descrito (Smith *et al.*, *J. Cell Biol.*, 101: 1608-1621, 1985). As células dissociadas foram preparadas a partir de medulas espinais dissecadas de ratos embrionários de 14 dias, por técnicas convencionais conhecidas dos peritos na arte, utilizando dissociação do tecido com tripsina (Smith *et al.*, 1985). Semearam-se (plaquearam-se) as células a 6×10^5 células/cm² em poços de cultura de tecidos de plástico revestidos com poli-l-ornitina em meio N2 isento de soro e incubaram-se a 37°C numa atmosfera humidificada de 5% de CO₂/95% de ar (Bottenstein e Sato, *PNAS USA* 76: 514-517, 1979), durante 48 horas. Mediu-se a actividade de ChAT utilizando modificações do processo Fonnum (*J. Neurochem.*, 24: 407-409, 1975) de acordo com Ishida e Deguchi (*J. Neurosci.*, 3: 1818-1823) e McManaman *et al.*, *Dev. Biol.*, 125: 311-320 (1988). A actividade foi normalizada para a proteína total medida pela reacção de ácido bicinónico/Cu⁺⁺ (reagente do teste de proteína BCA, Pierce, Rockland, Illinois, USA).

A Figura 1 mostra que vários compostos aqui definidos aumentam a actividade de ChAT a 300nM. O composto II-21 também era activo a 30 nM (aumento de 30% da actividade de ChAT em relação aos níveis basais). Este composto era mais potente do que o K-252a ou que os análogos remanescentes, uma vez que nenhum destes aumentou activamente a actividade de ChAT a 30 nM.

A Tabela seguinte mostra vários compostos na actividade de ChAT, em culturas de espinal medula de rato.

Composto	Actividade de ChAT na medula espinal	
	300 nM	30 nM
K-252a	100	-
II-44	146	80
II-34	133	66
II-47	126	-
II-1	122	-
II-31	120	-
II-29	118	65
II-32	118	70
II-38	118	-
II-2	111	NT
II-3	109	NT
II-46	109	84
II-5	104	NT
II-41	103	-
II-42	102	64
II-4	100	-
II-30	94	71
II-7	90	NT
II-39	90	-
II-36	86	-
II-8	85	-
II-9	83	64
II-10	81	143
IV-3	77	-
II-11	76	NT
II-21	76	63

Composto	Actividade de ChAT na medula espinal	
	300 nM	30 nM
III-1	75	-
II-12	75	-
IV-1	74	72
II-13	73	-
II-14	71	-
II-15	69	-
II-18	68	-
II-16	68	-
II-40	66	-
II-19	66	-
II-20	65	65
II-45	65	-
II-22	62	-
IV-2	62	NT
III-2	60	NT
II-25	58	-
II-23	55	-
II-24	50	-
II-26	39	-
II-33	-	77
II-43	-	125
II-49	-	62
II-51	130	53
II-56	88	53
II-48	70	-

NT = não testado a essa concentração

- = não activo a essa concentração

Lisboa, 24 DEZ. 2000

Por CEPHALON, INC. e KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.

- O AGENTE OFICIAL -

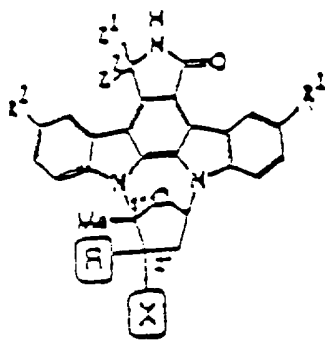
O ADJUNTO

ENG.º ANTÓNIO JOÃO
DA CUNHA FERREIRA
Ag. Of. Pr. Ind.
Rua das Flores, 74 - 4.º
1200 LISBOA

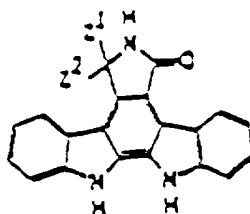


REIVINDICAÇÕES

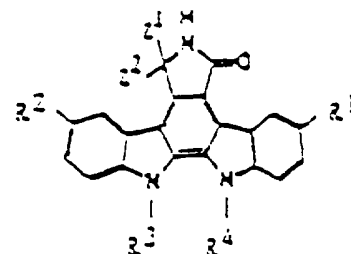
1. Utilização de um composto para a produção de um medicamento para utilização na potenciação, num mamífero, da função de um neurónio dos corpos estriados, sendo o composto um derivado funcional de K-252a, representado pelas fórmulas



(II)



(III)

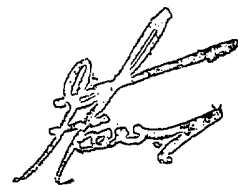


(IV)

ou

em que foram feitas as seguintes substituições:

Composto	R ¹	R ²	X	R	Z ¹⁽¹⁾ Z ²
II-1	H	H	CH ₂ N ₃	OH	H
II-2	NHCONHC ₆ H ₅	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-3	CH ₂ SOC ₂ H ₅	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-4	H	H	CH ₂ OH	OCH ₃	H
II-5	H	H	CONHC ₂ H ₅	OH	H
II-7 ^(2,7)	H	H	CH ₂ NH-Gly	OH	H
II-8	H	H	CON(CH ₃) ₂	OH	H
II-9 ⁽³⁾	H	H	-CH ₂ NHCO ₂ -		H
II-10	Br	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-11	H	H	CONH ₂	OH	H
II-12	H	H	CH ₂ OH	OH	H
III-1	--	H	--	--	H
II-13	H	H	CONHC ₃ H ₇	OH	H
II-14 ⁽²⁾	H	H	CH ₂ NH-Ser	OH	H
II-15	H	H	CH ₂ SOCH ₃	OH	H
II-16	H	H	CH=NOH	OH	H
II-18 ^(2,7)	H	H	CH ₂ NH-Pro	OH	H
II-19	H	H	CH=NNHC(=NH)NH ₂	OH	H
II-20	Br	Br	CO ₂ CH ₃	OH	O
II-21	H	H	CONH(CH ₂) ₂ OH	OH	H
II-22	H	H	CO ₂ CH ₃	OH	O



III-2	--	H	--	--	O
II-23	H	H	H	OH	H
II-24	H	H	CH=NNHCONH ₂	OH	H
II-25	H	H	CH ₂ OCOCH ₃	OH	H
II-26 ⁽³⁾	H	H	-CH ₂ OC(CH ₃) ₂ O-		H
II-29	NHCONHC ₂ H ₅	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-30	CH ₂ SC ₂ H ₅	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-31	Br	H	CH ₂ OH	OH	H
II-32	Br	Br	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-33	CH ₂ SC ₆ H ₅	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-34	Cl	Cl	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-36	H	H	CONHC ₆ H ₅	OH	H
II-37	H	H	CH ₂ SO	OH	H
II-38	H	H	CH ₂ NHCO ₂ C ₆ H ₅	OH	H
II-39	NHCONHC ₂ H ₅	NHCONHC ₂ H ₅	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-40	N(CH ₃) ₂	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-41	CH ₃	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-42	CH ₂ OCONHC ₂ H ₅	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-43	NHCO ₂ CH ₃	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-44	Br	Br	CH ₂ OH	OH	H
II-45	Br	Br	CONHC ₆ H ₅	OH	H
II-46	Br	Br	CONHCH ₂ CH ₂ OH	OH	H
II-47	CH ₂ OC ₂ H ₅	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-48	CH ₂ N(CH ₃) ₂	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-49	CH ₂ SO ₂ C ₂ H ₅	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-50	CH ₂ S	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-51	CH ₂ SC ₂ H ₅	CH ₂ SC ₂ H ₅	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-52	CH=NNH	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-53	CH ₂ S	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-54	CH ₂ S(O)	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-55	CH ₂ S(O)	H	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-56	CH ₂ SC ₂ H ₅	CH ₂ OH	CO ₂ CH ₃	OH	H
II-57	H	H	CH ₂ NHCO ₂ CH ₃	OH	H
II-58	Br	H	CONH ₂	OH	H
II-59	H	H	CH ₂ SC ₆ H ₅	OH	H
II-60	H	H	CH ₂ S	OH	H
II-61	H	H	CH ₂ SOC ₆ H ₅	OH	H
IV-1 ^(4,9)	H	H	--	--	H
IV-2 ⁽⁵⁾	Br	H	--	--	H
IV-3 ⁽⁶⁾	H	H	--	--	H
IV-4 ^(8,9)	H	H	--	--	H

- (1) Z^1 e Z^2 são ambos hidrogénio, ou ambos são combinados em conjunto para representar oxigénio, quando indicado.
- (2) a ligação NH-amino é uma ligação amida através do grupo carboxilo do aminoácido.
- (3) X e R são combinados em conjunto para formar o grupo ligante.
- (4) R^3 é $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$; R^4 é H.
- (5) R^3 e R^4 são cada um H.
- (6) R^3 e R^4 são cada um $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$.
- (7) O composto é na forma de cloridrato
- (8) R^3 é H e R^4 é $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$
- (9) IV-1 e IV-4 são uma mistura 1,5 a 1,0 dos dois componentes.

2. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o composto é seleccionado entre II-1, II-2, II-3, II-4, II-5, II-8, II-9, II-10, II-11, II-12, II-13, II-15, II-19, II-20, II-21, II-23, II-24, II-25, II-30, II-32, III-1 e III-2.

3. Utilização de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2, em que o medicamento compreende adicionalmente um factor neurotrófico.

4. Utilização de acordo com a reivindicação 3, em que o factor neurotrófico é um membro da família das neurotrofinas.

5. Utilização de acordo com a reivindicação 4, em que o referido membro é o factor de crescimento nervoso (NGF).

6. Utilização de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, para utilização no tratamento da doença de Huntingdon.

Lisboa, 74 DEZ. 2000

Por CEPHALON, INC. e KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.

- O AGENTE OFICIAL -

O ADJUNTO



ENG.º ANTÓNIO JOÃO DA CUNHA FERREIRA Ag. Of. Pr. Ind. Rua das Flores, 74 - 4.º 1200 LISBOA
--

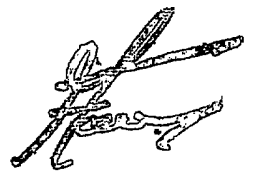


Figura 1

Efeito de K-252a na sobrevivência de neurónios em culturas de corpos estriados

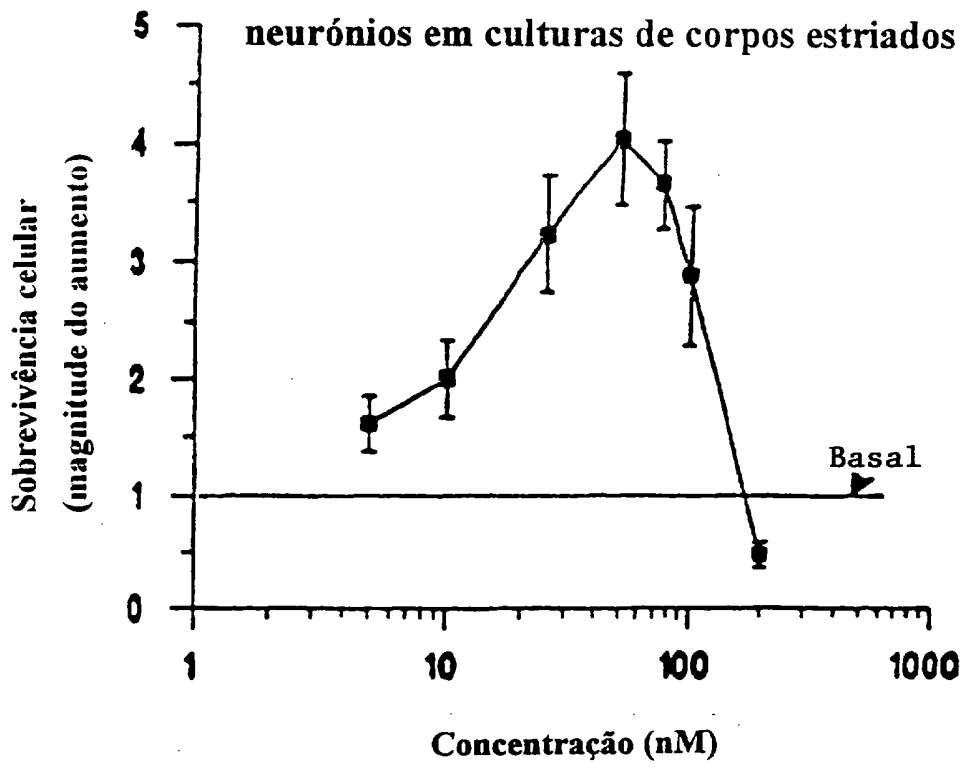


Figura 2

Efeito do K-252a no número de células
em culturas de corpos estriados

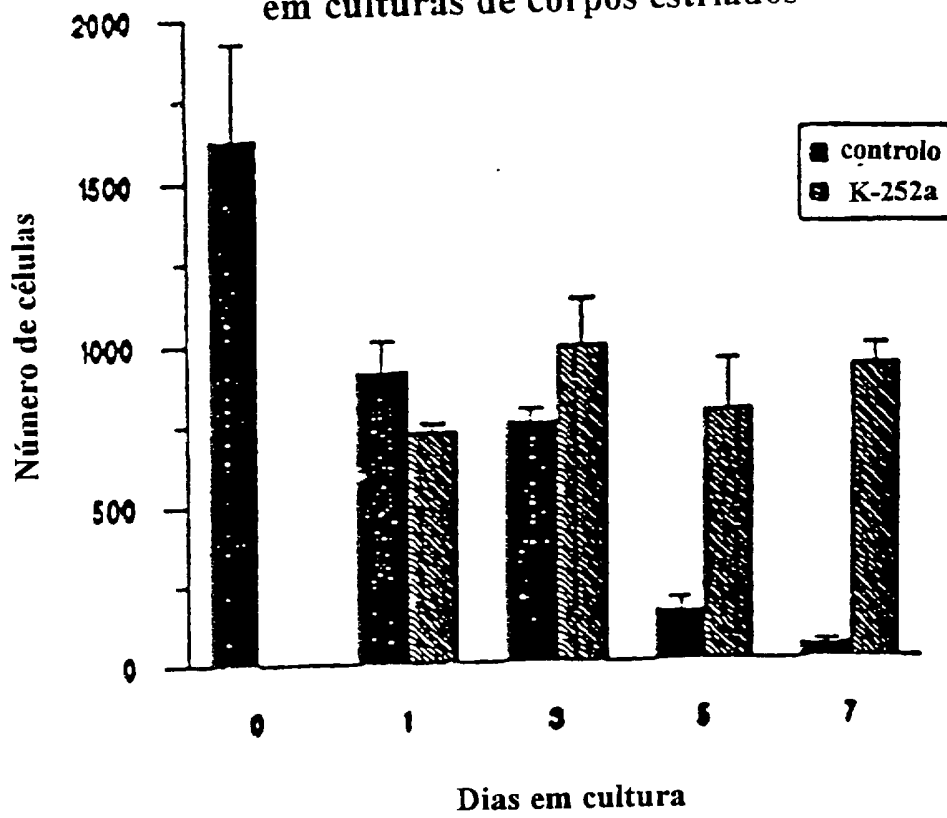
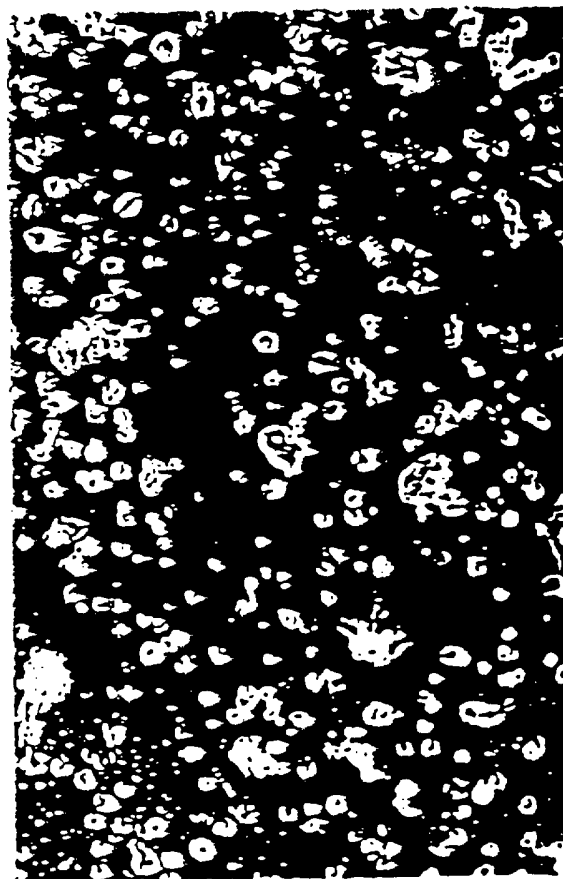
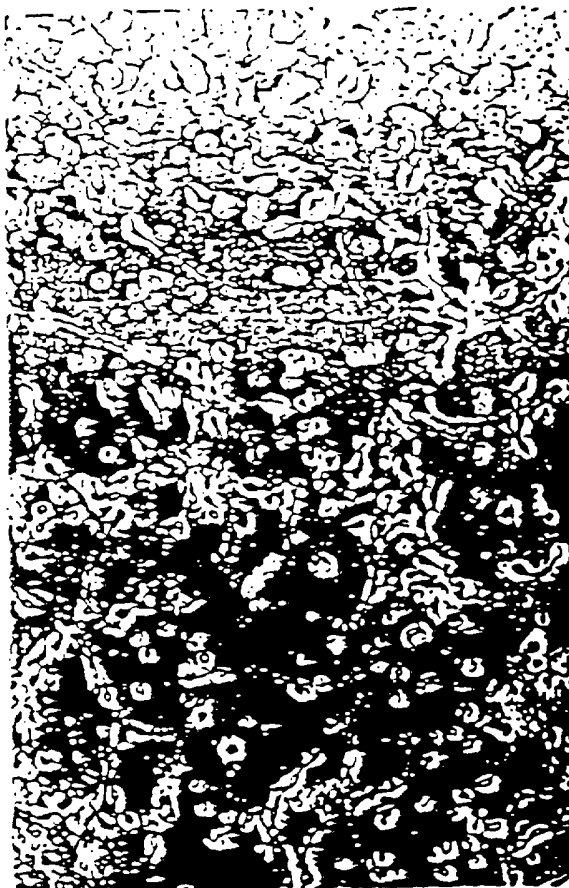


Figura 3

**EFEITO DE K-252a NA SOBREVIVÊNCIA DE NEURÓNIOS DE CORPO ESTRIADO
IN VITRO**



CONTROLO



K-252a 75NM

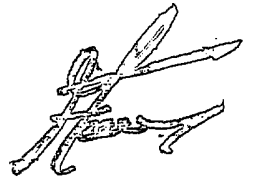
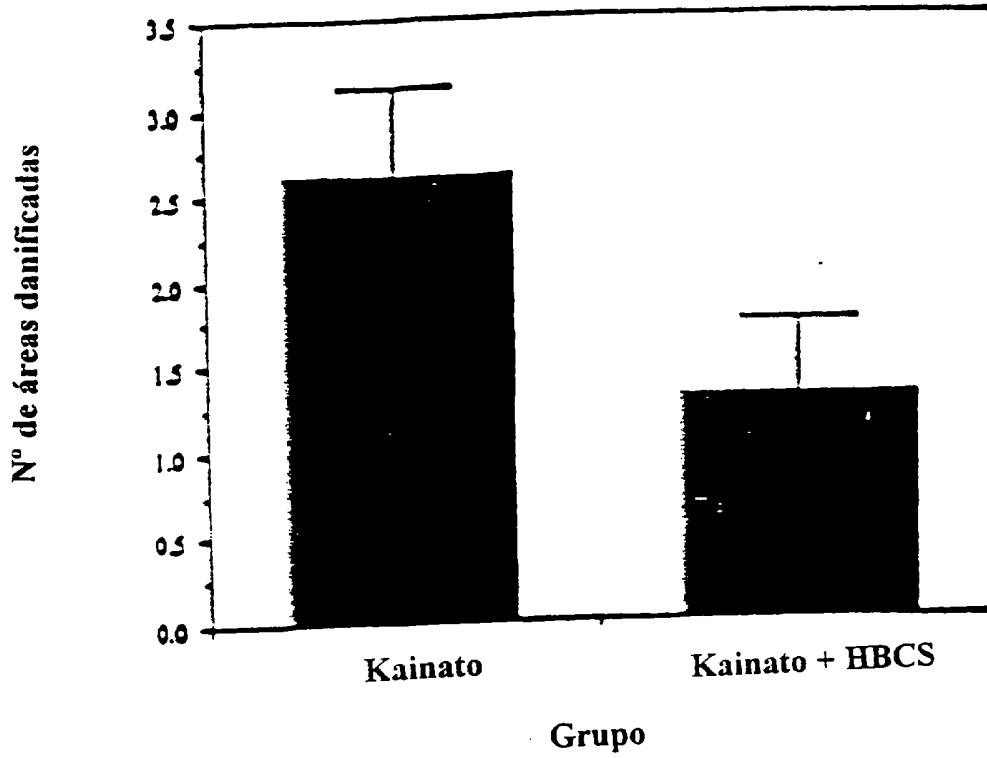


Figura 4 Efeito de hbc no dano do hipocampo induzido por kainato



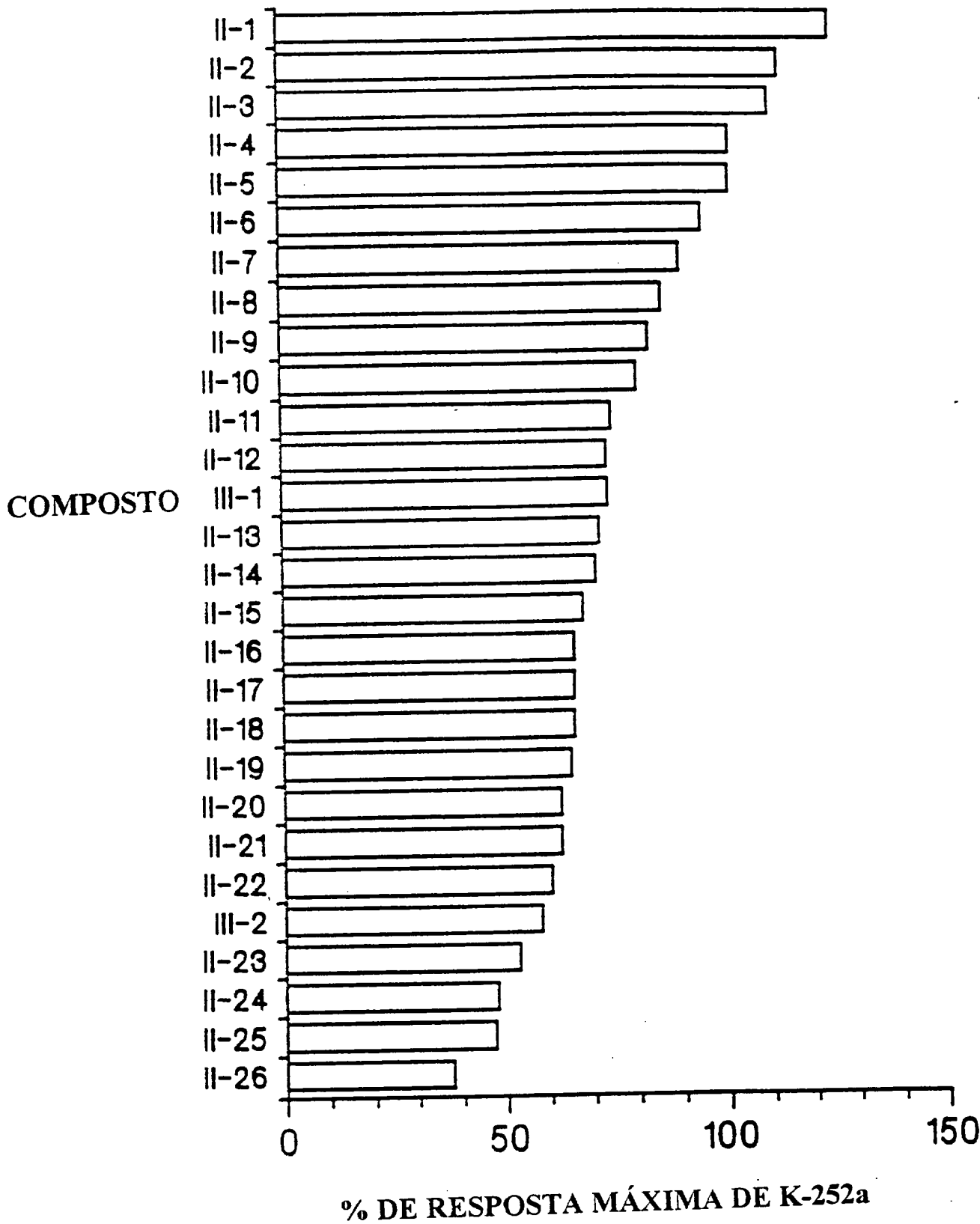
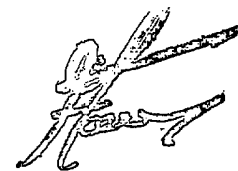


Figura 5