

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 654 930**

51 Int. Cl.:

A61K 31/445 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61K 31/4545 (2006.01)

A61K 31/46 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.04.2010 PCT/US2010/030760**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.10.2010 WO10120695**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.04.2010 E 10713790 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2017 EP 2419104**

54 Título: **Combinaciones de agonistas del receptor 5-HT4 y de inhibidores de la acetilcolinesterasa para el tratamiento de los trastornos cognitivos**

30 Prioridad:

13.04.2009 US 168741 P

06.01.2010 US 292559 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

15.02.2018

73 Titular/es:

**THERAVANCE BIOPHARMA R&D IP, LLC
(100.0%)**

**901 Gateway Boulevard
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**BEATTIE, DAVID;
SHEN, FEI;
SMITH, JACQUELINE, A., M.;
MCKINNELL, ROBERT, MURRAY y
CHANG, RAY**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 654 930 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Combinaciones de agonistas del receptor 5-HT₄ y de inhibidores de la acetilcolinesterasa para el tratamiento de los trastornos cognitivos

5

ANTECEDENTES DE LA PRESENTE INVENCION

Ámbito de la presente invención

La presente invención se refiere al uso de compuestos agonistas específicos del receptor 5-HT₄ en combinación con otros agentes, en concreto con inhibidores de acetilcolinesterasa, para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y de otros trastornos cognitivos, tal como se define en las reivindicaciones.

Estado técnico

El número de personas mayores con riesgo de desarrollar demencia está creciendo rápidamente a medida que la esperanza de vida aumenta en todo el mundo. La enfermedad de Alzheimer es la causa más común de demencia en los ancianos y según algunos expertos supone el 50-60% de todos los casos. En 2008 se calcula que, solo en los Estados Unidos, 5,2 millones de personas vivían con la enfermedad de Alzheimer, lo cual representa el 13% de la población de EE. UU. de edad igual o superior a 65 años.

La enfermedad de Alzheimer se define como un declive cognitivo progresivo y un deterioro del estado funcional que es incongruente con el envejecimiento normal. Se cree que los déficits en el sistema colinérgico contribuyen en gran medida a los síntomas cognitivos asociados a la enfermedad de Alzheimer. Por lo tanto el tratamiento farmacéutico dominante de la enfermedad de Alzheimer proporciona un alivio sintomático modesto con el uso de inhibidores de la acetilcolinesterasa. Se cree que estos agentes actúan reduciendo la velocidad de degradación de la acetilcolina y, como resultado, aumentan las concentraciones de acetilcolina en el cerebro.

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es un neurotransmisor ampliamente distribuido por todo el cuerpo, tanto en el sistema nervioso central como en los sistemas periféricos. Al menos han sido identificados siete subtipos de receptores de serotonina y la interacción de la serotonina con estos distintos receptores está vinculada a una gran variedad de funciones fisiológicas. Se ha demostrado que el sistema serotoninérgico cerebral está implicado en los procesos cognitivos. En concreto se ha demostrado que los receptores 5-HT₄ intervienen en el mecanismo neuronal que potencia la memoria y los procesos cognitivos en modelos animales. La activación del receptor 5-HT₄ mejora la liberación de acetilcolina de las neuronas colinérgicas y por tanto ofrece otro posible enfoque para una intervención farmacológica que aumente beneficiosamente las concentraciones de acetilcolina en las sinapsis cerebrales (Maillet y otros (2004) *Current Alzheimer Research* 1: 79-85). Asimismo se ha sugerido que algunos compuestos agonistas del receptor 5-HT₄ se pueden usar para tratar irregularidades del sistema nervioso central, incluyendo los trastornos cognitivos, los trastornos del comportamiento, trastornos del estado de ánimo tales como la depresión y la ansiedad, y los trastornos del control de la función autónoma.

La activación del receptor 5-HT₄ también estimula la actividad de la α -secretasa, dando como resultado mayores niveles de proteína precursora de amiloide alfa soluble (sAPP α), la cual tiene propiedades neurotróficas y neuro-protectoras y también se relaciona con una mejora cognitiva preclínicamente. El beta amiloide (A β) es un péptido de 39-43 aminoácidos que parece ser el principal constituyente de las placas amiloides en los cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer. Se forma A β tras la escisión de la proteína precursora amiloide por β - y γ -secretasas.

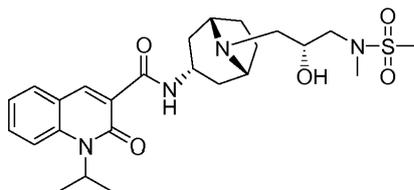
En estudios preclínicos la activación de la α -secretasa inducida por el agonista del receptor 5-HT₄ y la generación de sAPP α reduce el nivel de A β . Se espera que esta reducción de los niveles de A sea beneficiosa. Por lo tanto, los agonistas del receptor 5-HT₄ ofrecen la posibilidad de obtener beneficios tanto sintomáticos como modificadores de la enfermedad (Lezoualc'h (2007) *Experimental Neurology* 205: 325-329). Ferrer y otros revelan en *Drugs of the Future [Fármacos del futuro]*, 2008, 33 (9), 811-822 que el agonista de 5-HT₄ PRX-03140 solo es efectivo contra la enfermedad de Alzheimer leve. La combinación con donepezilo no tiene ningún efecto significativo en la puntuación ADAS-cog en comparación con el placebo. Lamirault y otros revelan en *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2003, 27, 185-195 que la combinación del agonista parcial de 5HT₄ RS 67333 y el inhibidor de ACE bromuro de galantaminio mejora la memoria de reconocimiento de objetos en ratas. Mohler y otros revelan en *Neuropharmacology*, 2007, 53, 563-573 que la combinación del agonista de 5HT₄ VRX-03011 y el inhibidor de ACE galantamina potencia la memoria y puede ser útil en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Cachard-Chastel y otros revelan en *Behavioral Brain Research*, 2008, 187, 455-461 que el tratamiento combinado con un agonista de 5HT₄ (prucaloprida o RS 67333) y el inhibidor de AC donepezilo mejora la memoria en ratones. Hasta la fecha no se ha aprobado ningún tratamiento que explote la utilidad potencial del mecanismo de 5-HT₄ para el tratamiento de los trastornos cognitivos. Por lo tanto hay necesidad de un tratamiento de la disfunción de la memoria en pacientes de la enfermedad de Alzheimer que aproveche los incrementos de las concentraciones de acetilcolina y otros beneficios potenciales esperables del uso de un agente agonista del receptor 5-HT₄.

65

RESUMEN DE LA PRESENTE INVENCION

La presente invención se refiere al uso de compuestos agonistas específicos del receptor 5-HT₄ en combinación con un inhibidor de acetilcolinesterasa para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o de un trastorno cognitivo, tal como está definido en las reivindicaciones. En particular la presente invención se refiere al uso de los compuestos agonistas del receptor 5-HT₄ y de un inhibidor de acetilcolinesterasa, de modo que la concentración de cada agente sea inferior a la concentración a la cual se puede observar un efecto significativo cuando se usa solo.

El agonista del receptor 5-HT₄, ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico {(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-hidroxi-3-(metanosulfonyl-metil-amino)propil]-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il}amida (1) y sus sales farmacéuticamente aceptables



1

se revelan en la patente US 7,375,114 B2. El compuesto 1 se designa alternativamente como 1,2-dihidro-N-[(3-endo)-8-[(2R)-2-hidroxi-3-[metil(metilsulfonyl)amino]propil]-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il]-1-(1-metiletil)-2-oxo-3-quinolin-carboxamida. En la patente WO 2006/108127 se describe una sal cristalina de hidrocloreto del compuesto 1.

El compuesto 1 es un agonista potente y selectivo del receptor 5-HT₄, que en ensayos *in vitro* presenta una actividad intrínseca entre moderada y alta. Se ha demostrado que el compuesto 1 atenúa un déficit de memoria inducido por antagonista muscarínico en el modelo cognitivo preclínico del laberinto acuático de Morris con ratas. Se observaron resultados congruentes con un efecto aditivo o sinérgico entre el compuesto 1 y el inhibidor de acetilcolinesterasa donepezilo a dosis que por sí solos tuvieron poco o ningún efecto. También se ha demostrado que el compuesto 1 provoca un aumento de la sAPP α dependiente de la concentración en los ensayos *in vitro*. Por lo tanto se espera que el compuesto 1 sea beneficioso para el tratamiento de la disfunción de la memoria.

En un aspecto, la presente invención ofrece el ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico {(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-hidroxi-3-(metanosulfonyl-metil-amino)propil]-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il}amida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en combinación con un inhibidor de la acetilcolinesterasa en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o un de trastorno cognitivo.

Los inhibidores útiles de la acetilcolinesterasa comprenden el hidrocloreto de donepezilo (disponible comercialmente como Aricept®), el hidrobromuro de galantamina, también escrito como hidrobromuro de galanthamina (Razadyne®, Reminyl®), el tartrato de rivastigmina (Exelon®) y el hidrocloreto de tacrina (Cognex®).

La presente invención ofrece además el compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usarlo como potenciador de la efectividad de un inhibidor de la acetilcolinesterasa en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o de un trastorno cognitivo.

El compuesto agonista de 5-HT₄ y el inhibidor de acetilcolinesterasa pueden administrarse cada uno a una dosis que es menos eficaz para tratar la enfermedad de Alzheimer o un trastorno cognitivo cuando se administran solos.

En un aspecto específico, el compuesto agonista del receptor 5-HT₄ es el hidrocloreto de ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico {(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-hidroxi-3-(metanosulfonyl-metil-amino)propil]-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il}amida y el inhibidor de acetilcolinesterasa es donepezilo.

La presente invención también tiene utilidad en un método para mejorar la memoria de un paciente que sufre déficit de memoria, el cual consiste en administrarle ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico {(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-hidroxi-3-(metanosulfonyl-metil-amino)propil]-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il}amida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un inhibidor de acetilcolinesterasa.

En un aspecto, el compuesto agonista de 5-HT₄ y el inhibidor de acetilcolinesterasa se administran cada uno a una dosis que es menos eficaz para mejorar la memoria de un paciente con déficit de memoria cuando se administran solos.

Como el aumento de los niveles de sAPP α se ha relacionado con la potenciación cognitiva, la presente invención se puede emplear en un método para incrementar los niveles de sAPP α de un paciente; este método consiste en (a) identificar un paciente que necesite aumentar la producción de sAPP α , es decir un paciente que tenga deterioro cognitivo, y (b) administrarle una cantidad terapéuticamente efectiva de ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-

carboxílico {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[(*R*)-2-hidroxi-3-(metanosulfonil-metil-amino)propil]-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il}amida y sus sales farmacéuticamente aceptables.

La presente invención ofrece además una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable, el ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[(*R*)-2-hidroxi-3-(metanosulfonil-metil-amino)propil]-8-azabicyclo [3.2.1]oct-3-il}amida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un inhibidor de la acetilcolinesterasa.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Se ilustran varios aspectos de la presente invención haciendo referencia a las figuras anexas.

Las figuras 1 hasta 4 muestran la latencia media de escape en segundos al tercer día de prueba de los animales evaluados según el modelo cognitivo del laberinto acuático de Morris con ratas.

La figura 1 muestra los resultados de la administración de vehículo, escopolamina (Scop) (0,5 mg/kg), donepezilo (0,3 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg), donepezilo (1 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg), y donepezilo (3 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg). * estadísticamente significativo con respecto al vehículo (prueba t de Student con ajuste de Bonferroni $p < 0,025$) # estadísticamente significativo respecto a escopolamina (0,5 mg/kg) (ANOVA unidireccional para escopolamina (0,5 mg/kg) y para todas las dosis de donepezilo más escopolamina (0,5 mg/kg), prueba post hoc de Dunnett $p < 0,05$).

La figura 2 muestra los resultados de la administración de vehículo, escopolamina (Scop) (0,5 mg/kg), donepezilo (3 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg), compuesto 1 (0,01 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg), compuesto 1 (0,03 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg), compuesto 1 (0,1 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg) y compuesto 1 (0,1 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg). *** estadísticamente significativo con respecto al vehículo (prueba t de Student con ajuste de Bonferroni $p < 0,0005$) # estadísticamente significativo con respecto a la escopolamina (0,5 mg/kg) (ANOVA unidireccional para escopolamina (0,5 mg/kg) y para todas las dosis del compuesto 1 más escopolamina (0,5 mg/kg), prueba post hoc de Dunnett $p < 0,05$).

La figura 3 muestra los resultados de la administración de vehículo, escopolamina (Scop) (0,5 mg/kg), GR125487 (1 mg/kg), compuesto 1 (0,1 mg/kg) más GR125487 (1 mg/kg) y escopolamina (0,5 mg/kg) y el compuesto 1 (0,1 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg). * estadísticamente significativo con respecto al vehículo (Student t-test con ajuste de Bonferroni $p < 0,025$) †† estadísticamente significativo con respecto al compuesto 1 (0,1 mg/kg) más GR125487 (1 mg/kg) y escopolamina (0,5 mg/kg) (prueba t de Student con ajuste de Bonferroni $p < 0,005$) # estadísticamente significativo con respecto a la escopolamina (0,5 mg/kg) (prueba t de Student con ajuste de Bonferroni $p < 0,025$).

La figura 4 muestra los resultados de la administración de vehículo, escopolamina (Scop) (0,5 mg/kg), donepezilo (0,1 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg), compuesto 1 (0,01 mg/kg) más escopolamina (0,5 mg/kg), y compuesto 1 (0,01 mg/kg) más donepezilo (0,1 mg/kg) y escopolamina (0,5 mg/kg) * estadísticamente significativo con respecto al vehículo (prueba t de Student $p < 0,05$).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA PRESENTE INVENCION

Definiciones

Al describir las composiciones y los usos de la presente invención, los siguientes términos tienen los significados siguientes, a menos que se indique lo contrario.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva" significa una cantidad suficiente para efectuar el tratamiento cuando se administra a un paciente que lo necesita.

El término "cantidad subeficaz" o de modo equivalente "dosis subeficaz" significa una cantidad o dosis inferior a una cantidad o dosis terapéuticamente efectiva.

Tal como se emplea aquí, el término "tratamiento" significa el tratamiento de una enfermedad, trastorno o problema médico en un paciente como un mamífero (particularmente un ser humano) que incluye una o más de las siguientes medidas:

(a) evitar la aparición de la enfermedad, del trastorno o del problema médico, es decir el tratamiento profiláctico de un paciente;

(b) mejorar la enfermedad, el trastorno o el problema médico, es decir, eliminar o provocar la regresión de la enfermedad, trastorno o condición médica en un paciente, incluyendo la neutralización de los efectos de otros agentes terapéuticos;

- (c) suprimir la enfermedad, el trastorno o el problema médico, es decir, ralentizar o detener el desarrollo de la enfermedad, trastorno o condición médica en un paciente; o
 (d) aliviar los síntomas de la enfermedad, trastorno o problema médico en un paciente.

5 Tal como se emplea aquí, el término “terapia de combinación” significa la administración de dos o más agentes terapéuticos como parte de un protocolo de tratamiento destinado a proporcionar efectos beneficiosos a partir de la acción combinada de los agentes terapéuticos.

10 Tal como se emplea aquí, el término “inhibidor de acetilcolinesterasa” significa cualquier agente que tenga el efecto de inhibir la acción de la acetilcolinesterasa. El término incluye agentes denominados inhibidores de colinesterasa, que además pueden tener otra actividad, por ejemplo como inhibidores de butirilcolinesterasa.

El término “donepezilo” se usa aquí como equivalente del hidrocloreto de donepezilo.

15 Demostración de la mejora cognitiva *in vivo*

Tal como se describe adicionalmente en los siguientes ejemplos, la eficacia del agonista de 5-HT₄ ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[(*R*)-2-hidroxi-3-(metanosulfonil-metil-amino)propil]-8-azabicyclo [3.2.1]oct-3-il}amida (1) para revertir el deterioro de la memoria inducido por el antagonista muscarínico en ratas se evaluó según el modelo del laberinto acuático de Morris.

20 El compuesto 1 en dosis de 0,03, 0,1 y 1 mg/kg atenuó el deterioro de la memoria inducido en las ratas mediante la inyección de escopolamina. Se observó una respuesta estadísticamente significativa a 0,1 mg/kg. La potencia y/o la eficacia del compuesto agonista de 5-HT₄ parece ser similar a la del donepezilo, un inhibidor de la acetilcolinesterasa comercializado para el tratamiento sintomático de la enfermedad de Alzheimer. Los efectos potenciadores cognitivos del compuesto 1 se evitaron mediante la administración conjunta de un antagonista selectivo de 5-HT₄, confirmando la participación de los receptores 5-HT₄ en la respuesta observada.

25 Se observó significativamente un efecto aditivo o sinérgico entre el compuesto 1 y el donepezilo a unas dosis de 0,01 mg/kg y 0,1 mg/kg, respectivamente, una dosis que no fue eficaz para revertir el deterioro cognitivo inducido por escopolamina cuando se administró por separado.

30 Demostración de la liberación de sAPPα *in vitro*

35 Los efectos del compuesto 1 en la liberación extracelular de sAPPα se estudiaron en células HEK293 transfectadas de forma estable con receptores humanos 5-HT_{4(d)} y APP695 humana (proteína precursora amiloide). El compuesto provocó un aumento de la liberación de sAPPα dependiente de la concentración. La liberación fue bloqueada por el antagonista selectivo del receptor 5-HT₄ GR113808, lo que indica que el efecto observado está relacionado con el agonismo del receptor 5-HT₄.

40

Métodos de tratamiento

45 Se espera que este agonista de 5-HT₄, el compuesto 1, sirva para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o de un trastorno cognitivo, incluyendo el tratamiento del deterioro cognitivo leve y el tratamiento de la disfunción de la memoria relacionada con la enfermedad de Alzheimer y de la demencia de tipo Alzheimer. Además el compuesto también puede ser útil para el tratamiento de otros trastornos del sistema nervioso central, incluyendo trastornos del comportamiento, trastornos del estado de ánimo tales como la depresión y la ansiedad, y trastornos del control de la función autónoma. Asimismo se ha sugerido que los compuestos que aumentan las concentraciones de acetilcolina también pueden ser útiles para el tratamiento de otras formas de demencia, tales como la demencia relacionada con la enfermedad de Parkinson, la demencia debida a mecanismos vasculares y la demencia de cuerpos de Lewy.

50

55 Se observó un efecto aditivo o sinérgico en los ensayos del laberinto de agua con ratas, al administrar el presente compuesto de 5-HT₄ junto con un inhibidor de acetilcolinesterasa a unas dosis en las que el compuesto era ineficaz si se administraba solo. En consecuencia se espera que el compuesto sea útil para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o de un trastorno cognitivo, cuando se administra combinado con un inhibidor de acetilcolinesterasa como el hidrocloreto de donepezilo (Aricept®), el hidrobromuro de galantamina (Razadyne®, Reminyl®), el tartrato de rivastigmina (Exelon®) o el hidrocloreto de tacrina (Cognex®). Además de aportar los beneficios de los agentes que actúan por distintos mecanismos de acción complementarios, la terapia de combinación proporciona la posible ventaja adicional de permitir el uso de dosis más bajas de cada agente, limitando así la exposición a cualquier efecto secundario adverso.

60

65 Cuando se emplean en terapia combinada, los presentes compuestos de 5-HT₄ se mezclan físicamente con el otro agente terapéutico para formar una composición que contenga ambos agentes, o bien cada agente se encuentra en composiciones separadas y diferentes que se administran al paciente de forma simultánea o secuencial en cualquier orden. Cuando están formulados por separado, la terapia combinada incluye la administración de los dos agentes básicamente al mismo tiempo, así como la administración de cada agente en un momento diferente.

Por ejemplo, los presentes compuestos de 5-HT₄ se pueden combinar con un segundo agente terapéutico usando procedimientos y equipos habituales para formar una composición. Además, los agentes terapéuticos se pueden combinar con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Según esta forma de ejecución, los componentes de la composición típicamente se mezclan o combinan para crear una mezcla física. Luego la mezcla física se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva a través de cualquiera de las vías descritas a continuación.

Alternativamente, los agentes terapéuticos pueden permanecer separados y diferentes antes de la administración al paciente. En esta forma de ejecución los agentes no se mezclan físicamente entre sí antes de la administración, sino que se administran simultáneamente o en momentos distintos como composiciones separadas. Tales composiciones se pueden envasar por separado o juntas en un kit. Los dos agentes terapéuticos del kit se pueden administrar a través de la misma vía de administración o por vías diferentes.

Si hay que usarlo para tratar la enfermedad de Alzheimer o los trastornos cognitivos, el compuesto 1 se administrará normalmente por vía oral en una sola dosis diaria o en múltiples dosis por día, aunque también se pueden usar otras formas de administración. En ciertas circunstancias puede ser beneficioso administrar los presentes compuestos de 5-HT₄ por vía transdérmica o parenteral. La cantidad de principio activo administrado en cada dosis o la cantidad total administrada por día será establecida generalmente por un médico, atendiendo a las circunstancias relevantes, incluida la gravedad de la afección que debe tratarse, la vía de administración escogida, el compuesto específico administrado y su actividad relativa, la edad, el peso y la respuesta de cada paciente, y similares.

Las dosis adecuadas para tratar la enfermedad de Alzheimer o los trastornos cognitivos variarán aproximadamente entre 0,1 y 90 mg diarios de agente agonista de 5-HT₄ para un humano con un peso medio de 70 kg, incluyendo, por ejemplo, 1 hasta 50 mg diarios aproximadamente de compuesto 1.

Cuando los presentes compuestos de 5-HT₄ se usan en terapia combinada con un inhibidor de acetilcolinesterasa, el inhibidor de acetilcolinesterasa se administra en cantidad terapéuticamente efectiva, es decir, en cualquier cantidad que produzca un efecto terapéuticamente beneficioso cuando se administre junto con el compuesto 1. Las dosis adecuadas de inhibidor de acetilcolinesterasa administrado en combinación con los presentes compuestos están comprendidas normalmente en el intervalo aproximado de 1 mg/día hasta 30 mg/día. Tal como se ha descrito anteriormente, cuando se usa como parte de la terapia combinada, una dosis efectiva de cada uno de los agentes puede ser menor que la dosis efectiva de cada agente utilizado por separado.

Composiciones farmacéuticas

El presente agonista de 5-HT₄ y el inhibidor de acetilcolinesterasa se administran típicamente a un paciente en forma de composición o formulación farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden administrar al paciente a través de cualquier vía aceptable, incluyendo, sin limitarse a ellas, las vías de administración oral, rectal, vaginal, nasal, por inhalación, tópica (incluyendo transdérmica) y parenteral.

Las composiciones farmacéuticas contienen normalmente una cantidad terapéutica efectiva de los agentes activos. No obstante, los especialistas en la materia reconocerán que una composición farmacéutica puede contener una cantidad superior a la terapéuticamente efectiva, es decir, composiciones generales, o inferior a la misma, es decir, dosis unitarias individuales pensadas para la administración múltiple, que contengan una cantidad terapéuticamente eficaz.

Normalmente tales composiciones farmacéuticas contendrán aproximadamente 0,1 hasta 95% en peso del principio activo, preferiblemente 5 hasta 70% en peso aproximadamente del principio activo.

En las composiciones farmacéuticas de la presente invención se puede usar cualquier vehículo o excipiente habitual. La elección de un vehículo o excipiente particular, o de combinaciones de vehículos o excipientes, dependerá de la vía de administración empleada para tratar a un paciente en concreto o del tipo de problema médico o del estado de la enfermedad. A este respecto, la preparación de una composición farmacéutica adecuada para un modo particular de administración cae dentro del ámbito de los especialistas en tecnología farmacéutica. Además, los vehículos o excipientes usados en las composiciones farmacéuticas de la presente invención están disponibles comercialmente. Como ilustración adicional, las técnicas convencionales de formulación están descritas en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20^a edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); y H.C. Ansel y otros, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7^a Edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Los ejemplos representativos de materiales que pueden servir de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitarse a ellos, los siguientes: azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones como el almidón de maíz y el almidón de patata; celulosa, como la celulosa microcristalina, y sus derivados, tales como carboximetil celulosa sódica, etil celulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites tales como el aceite de cacahuete, el aceite de semilla de algodón, el aceite de cártamo, el aceite de sésamo, el aceite de oliva, el aceite de maíz y el aceite de soja; glicoles tales como el propilenglicol; polioles tales como glicerina, sorbita, manita y polietilenglicol; ésteres tales como oleato

de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tampón tales como hidróxido magnésico e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones tampón de fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en composiciones farmacéuticas.

5 Las composiciones farmacéuticas se suelen preparar mezclando o combinando íntimamente y a fondo el principio activo con un vehículo farmacéuticamente aceptable y uno o más ingredientes opcionales. A continuación la mezcla resultante, mezclada uniformemente, se puede moldear o cargar en tabletas, cápsulas, píldoras y similares utilizando procedimientos y equipos convencionales.

10 Las composiciones farmacéuticas se envasan preferentemente en forma de dosificación unitaria. El término "forma de dosificación unitaria" se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada para dosificar un paciente, es decir, cada unidad contiene una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, solo o en combinación con una o más unidades adicionales. Estas formas de dosificación unitaria pueden ser, por ejemplo, cápsulas, tabletas, píldoras y similares, o envases unitarios aptos para administración la parenteral.

15 En una forma de ejecución, las composiciones farmacéuticas según la presente invención son adecuadas para la administración oral. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, tabletas, píldoras, pastillas, sellos, grageas, polvos, gránulos; o en forma de solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o en forma de emulsión líquida de aceite en agua o agua en aceite; o en forma de elixir o jarabe; y similares; en cada caso con un contenido de una cantidad predeterminada de un compuesto terapéutico como ingrediente activo.

20 Las composiciones farmacéuticas previstas para la administración oral en forma de dosificación sólida (es decir, en forma de cápsulas, tabletas, píldoras y similares) contendrán normalmente el principio activo y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables tales como citrato sódico o fosfato dicálcico. Estas formas de dosificación sólidas también pueden incluir opcional o alternativamente: rellenos o cargas tales como almidones, celulosa microcristalina, lactosa, sacarosa, glucosa, manita y/o sílice; aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, poli(vinilpirrolidona), sacarosa y/o goma arábiga; hidratantes como la glicerina; agentes desintegrantes tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y/o carbonato sódico; agentes retardantes de disolución como la parafina; acelerantes de absorción tales como los compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes tales como el alcohol cetílico y/o el monoestearato de glicerina; absorbentes tales como el caolín y/o la arcilla de bentonita; lubricantes tales como talco, estearato cálcico, estearato magnésico, poli-etilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico y/o mezclas de los mismos; sustancias colorantes; y agentes tampón.

35 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden incluir agentes antiadherentes, agentes humectantes, agentes de revestimiento, edulcorantes, saborizantes y aromatizantes, conservantes y antioxidantes. Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, como ácido ascórbico, hidrocloreuro de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfato sódico, sulfito sódico y similares; antioxidantes solubles en aceite, como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético, sorbita, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares. Los agentes de revestimiento para tabletas, cápsulas, píldoras y similares, incluyen los empleados para recubrimientos entéricos, por ejemplo acetato-ftalato de celulosa, acetato ftalato de polivinilo, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, copolímeros de ésteres de ácido metacrílico-ácido metacrílico, acetato-trimelitato de celulosa, carboximetil etil celulosa, acetato-succinato de hidroxipropil metil celulosa y análogos. Los agentes de recubrimiento también incluyen talco, polietilenglicol, hipomelosa y dióxido de titanio.

40 Las composiciones farmacéuticas también se pueden formular de manera que el principio activo sea liberado lenta o controladamente, empleando, por ejemplo, hidroxipropil metil celulosa en proporciones variables; u otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Además, las composiciones farmacéuticas pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden formularse de modo que solo liberen el principio activo en el tracto gastrointestinal o, preferentemente, en una determinada porción del mismo y opcionalmente de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión utilizables comprenden sustancias poliméricas y ceras. El principio activo también puede estar en forma microencapsulada, si es conveniente, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

55 Las formas líquidas de dosificación adecuadas para la administración oral incluyen, a modo ilustrativo, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Las formas líquidas de dosificación llevan normalmente el principio activo y un diluyente inerte como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (especialmente los aceites de semillas de algodón, maní, maíz, germen de trigo, oliva, ricino y sésamo), glicerina, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos. Las suspensiones, además del ingrediente activo, pueden contener agentes suspensores como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilen sorbita y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

65

Los presentes principios activos también se pueden administrar por vía parenteral (p.ej., por inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal). Para la administración parenteral, el principio activo suele mezclarse con un vehículo adecuado para la administración parenteral, incluyendo, por ejemplo, soluciones acuosas estériles, suero fisiológico, alcoholes de bajo peso molecular como propilenglicol y polietilenglicol, aceites vegetales, gelatina, ésteres de ácidos grasos como el oleato de etilo y análogos. Las formulaciones parenterales también pueden llevar uno o más antioxidantes, solubilizantes, estabilizantes, conservantes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes tampón o agentes dispersantes. Estas formulaciones se pueden esterilizar mediante el uso de un medio inyectable estéril, de un agente esterilizante, por filtración, irradiación o calor.

Alternativamente los agentes se formulan para la administración por inhalación. Las composiciones farmacéuticas aptas para la administración por inhalación estarán normalmente en forma de aerosol o polvo. Estas composiciones se administran generalmente utilizando dispositivos de administración bien conocidos, tales como un inhalador de dosis calibradas, un inhalador de polvo seco, un nebulizador o un dispositivo de administración similar.

Cuando se administran por inhalación con el uso de un recipiente presurizado, las composiciones farmacéuticas de la presente invención contendrán normalmente el ingrediente activo y un propelente adecuado, como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas apropiado. Por otra parte, la composición farmacéutica puede estar en forma de una cápsula o cartucho (hecho, por ejemplo, de gelatina) que contenga un compuesto de la presente invención y un material en polvo adecuado para el uso en un inhalador de polvo. Las bases en polvo adecuadas incluyen, por ejemplo, lactosa o almidón.

Por último, los principios activos también pueden administrarse por vía transdérmica usando sistemas y excipientes conocidos para la administración transdérmica. Por ejemplo, el principio activo se puede mezclar con potenciadores de permeación tales como propilenglicol, monolaurato de polietilenglicol, azacicloalcan-2-onas y similares, y puede incorporarse a un parche o sistema de administración similar. Si conviene, en estas composiciones transdérmicas se pueden usar excipientes adicionales, incluyendo agentes gelificantes, emulsionantes y tampones.

Las composiciones farmacéuticas representativas útiles para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o de un trastorno cognitivo incluyen los siguientes ejemplos, en los cuales el "compuesto de la presente invención" se refiere al compuesto 1. El compuesto 1 se suministra normalmente como sal de hidrocloreuro, pero debe entenderse que cualquier forma del compuesto (es decir, base libre o sal farmacéutica) que sea adecuada para el modo concreto de administración se puede usar en las composiciones farmacéuticas siguientes.

Ejemplo de formulación A: cápsulas de gelatina dura para la administración oral

Un compuesto de la presente invención (20 mg), almidón (89 mg), celulosa microcristalina (89 mg) y estearato magnésico (2 mg) se mezclan a fondo y luego se pasan a través de un tamiz U.S. de malla nº 45. La composición resultante se carga en una cápsula de gelatina dura (200 mg de composición por cápsula).

Ejemplo de formulación B: cápsulas de gelatina para la administración oral

Un compuesto de la presente invención (10 mg), monooleato de polioxietilensorbitán (50 mg) y almidón en polvo (250 mg) se mezclan a fondo y luego se cargan en una cápsula de gelatina (310 mg de composición por cápsula).

Ejemplo de formulación C: tabletas para la administración oral

Un compuesto de la presente invención (5 mg), celulosa microcristalina (400 mg), sílice pirógena (10 mg) y ácido esteárico (5 mg) se mezclan a fondo y luego se comprimen formando tabletas (420 mg de composición por tableta).

Ejemplo de formulación D: tabletas para la administración oral

Un compuesto de la presente invención (2 mg), celulosa microcristalina (400 mg), sílice pirógena (10 mg) y ácido esteárico (5 mg) se mezclan a fondo y luego se comprimen formando tabletas (417 mg de composición por tableta).

Ejemplo de formulación E: tabletas para la administración oral

Un compuesto de la presente invención (20 mg), celulosa microcristalina (400 mg), sílice pirógena (10 mg) y ácido esteárico (5 mg) se mezclan a fondo y luego se comprimen formando tabletas (435 mg de composición por tableta).

Ejemplo de formulación F: tabletas acanaladas para la administración oral

Un compuesto de la presente invención (15 mg), almidón de maíz (50 mg), croscarmelosa sódica (25 mg), lactosa (120 mg) y estearato magnésico (5 mg) se mezclan a fondo y luego se comprimen formando tabletas con una sola muesca (215 mg de composición por tableta).

65

Ejemplo de formulación G: suspensión para la administración oral

Los siguientes ingredientes se mezclan a fondo formando una suspensión de administración oral que lleva 20 mg de ingrediente activo por 10 ml de suspensión: compuesto de la presente invención (200 mg), benzoato sódico, citrato sódico, agua purificada (c.s. hasta 100 ml).

Ejemplo de formulación H: formulación inyectable

Un compuesto de la presente invención (20 mg) se mezcla con una solución tampón de citrato sódico 0,1 M (15 ml). El pH de la solución resultante se ajusta a pH 6 con ácido clorhídrico acuoso 1 N o hidróxido sódico acuoso 1N. Luego se agrega suero fisiológico normal esterilizado, en tampón de citrato, para llegar a un volumen total de 20 ml.

Ejemplo de formulación I: tabletas acanaladas para la administración oral

Un compuesto de la presente invención (5 mg), hidrocloreuro de donepezilo (5 mg), almidón de maíz (50 mg), celulosa microcristalina (15 mg), hidroxipropil celulosa (10 mg), lactosa (120 mg) y estearato magnésico (5 mg) se mezclan a fondo y después se comprimen formando una tableta con una sola muesca (210 mg de composición por tableta).

Ejemplo de formulación J: suspensión para la administración oral

Los siguientes ingredientes se mezclan a fondo formando una suspensión de administración oral que lleva 5 mg de cada agente por 10 ml de suspensión: compuesto de la presente invención (50 mg), tartrato de rivastigmina (50 mg), benzoato sódico, citrato sódico, agua purificada (c.s. hasta 100 ml).

EJEMPLOS

La capacidad del agonista de 5-HT₄, ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico {(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-hidroxi-3-(metanosulfonil-metil-amino)propil]-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il}amida (1), utilizado por separado (no es objeto de la presente invención) o combinado con el inhibidor de acetilcolinesterasa donepezilo para evitar el deterioro de la memoria espacial inducido por el antagonista del receptor muscarínico escopolamina se evaluó en el modelo animal del laberinto acuático de Morris con ratas (Morris (1984) Journal of Neuroscience Methods 11:47-60). En todos los ensayos se usó la sal de hidrocloreuro del compuesto 1.

Metodología según el modelo del laberinto acuático de Morris

El investigador manejó ratas macho Sprague-Dawley adultas (de peso corporal comprendido en un intervalo de 275-400 g) durante 5 minutos aproximadamente un día antes de cada estudio. El primer día de estudio se dosificó a cada rata por vía intraperitoneal (i.p.) primero el compuesto de ensayo o vehículo y luego inmediatamente el antagonista del receptor muscarínico escopolamina (0,5 mg/kg, una dosis previamente determinada para producir un declive cognitivo casi total en este modelo) o vehículo. Treinta minutos después de la dosificación, las ratas se introdujeron individualmente en un tanque circular de polietileno (de 6 pies de diámetro), de color azul oscuro, lleno de agua (mantenida a 23°C ± 1°C). En una posición fija a 1 cm por debajo del nivel del agua y a 34 cm de la pared del tanque había una plataforma transparente de Perspex®. Cuatro señales visuales (imágenes de tamaño A4 con diferentes símbolos en blanco y negro) estaban igualmente repartidas sobre la pared del tanque, justo por encima del nivel del agua. Se colocaron cortinas negras alrededor del tanque y se generó ruido blanco durante todo el ensayo. Cada rata se soltó en el agua, mirando hacia la pared del tanque, en un punto de partida determinado (en este caso, al lado norte del tanque) y se le dejó 60 segundos para encontrar la plataforma sumergida después de cada suelta. La latencia de escape (en segundos) entre la suelta de la rata en el agua y su localización de la plataforma se registró automáticamente con una cámara de video (San Diego Instrument, CA) y un programa informático de seguimiento (programa SMART, San Diego Instrument, CA). Cuando una rata no pudo encontrar la plataforma en 60 segundos, fue guiada hacia la plataforma y luego colocada sobre ella (frente a una señal visual concreta). A las ratas se les dejó permanecer en la plataforma durante 30 segundos para observar las señales visuales externas y relacionarlas con la posición relativa de la plataforma. Luego se sacaron las ratas de la plataforma y se secaron suavemente con una toalla de papel antes de repetir la prueba tres veces más (tomando como posición de partida primero el sur, luego el este y por último el oeste). Tras la cuarta prueba cada rata se colocó bajo una lámpara de calentamiento durante 5 minutos, antes de devolverla a su jaula de origen. El procedimiento completo se repitió los días 2 y 3. Durante los tres días de ensayo las ratas aprendieron a asociar la ubicación de la plataforma sumergida (y su único medio para escapar del agua) con las señales visuales.

Se evaluó la capacidad de los compuestos de ensayo para inhibir el deterioro cognitivo inducido por escopolamina. El día 4 cada rata recibió la dosificación como antes y se sometió a un "ensayo de comprobación" de 2 minutos, para el cual se había retirado la plataforma del tanque. Se registró el número de cruces a través de la posición anterior de la plataforma y el tiempo pasado por la rata en cada cuadrante. Los animales que habían aprendido la ubicación de la plataforma pasaron más tiempo en el cuadrante apropiado y lo cruzaron repetidamente. Al realizar el ensayo de comprobación se pudieron excluir del análisis los falsos positivos (es decir, las ratas que antes habían localizado la

plataforma mediante una estrategia independiente de las señales visuales, como nadar aleatoriamente hasta tocar la plataforma con una pata). No se excluyó ningún animal basándose en datos contradictorios entre los tres días de prueba y el ensayo de comprobación.

5 Análisis de los datos

La latencia media de escape de cada una de las cuatro pruebas realizadas en el mismo día del ensayo se calculó para cada rata y luego estos datos se combinaron para determinar la latencia media de escape para cada grupo de tratamiento en los días 1, 2 y 3. Los datos se analizaron estadísticamente como sigue:

10 Mediante una prueba t de Student se compararon las latencias de escape entre los grupos de vehículo / vehículo y vehículo / escopolamina. El valor α se ajustó a 0,025 según Bonferroni, ya que el grupo de vehículo / escopolamina se sometió tanto a una prueba t de Student como a un análisis ANOVA unidireccional.

15 A fin de comparar las latencias de escape entre los grupos de vehículo / escopolamina y compuesto de ensayo / escopolamina se usó un ANOVA unidireccional seguido de una prueba post hoc de Dunnett, que con $p < 0,05$ indica una diferencia estadísticamente significativa.

20 Se realizaron repetidas medidas de ANOVA bidireccional, seguidas de una prueba post hoc de Bonferroni, para comparar la latencia media de escape para cada uno de los tres días sucesivos de ensayo, que con $p < 0,05$ indica una diferencia estadísticamente significativa.

Materiales

25 El compuesto 1 agonista de 5-HT₄ se preparó según los procedimientos descritos en la patente US 7,375,114 B2. El hidrocloreto de donepezilo se adquirió a Changzhou Dahua Imp. and Exp. Corp. Ltd. (Changzhou, Jiangsu, China) y el hidrocloreto de escopolamina se adquirió de Sigma Aldrich (St. Louis, MO) o de Spectrum Chemical Mfg. Corp. (Gardena, CA). El sulfamato de GR125487 se adquirió en Tocris (Ellisville, MO). El compuesto 1 y el donepezilo se formularon en 5% de dimetilsulfóxido y 95% de suero fisiológico estéril; en cambio la escopolamina y el GR125487 se prepararon en suero fisiológico estéril al 100%. Las dosis se refirieron al peso de base libre de cada compuesto.

Validación del modelo

35 En cada estudio la dosificación (i.p.) a las ratas con vehículo 30 minutos antes de la prueba dio como resultado una reducción progresiva de la latencia de escape. El día 1, las ratas tratadas con vehículo localizaron normalmente la plataforma oculta con una latencia media de las cuatro pruebas comprendida en un intervalo de 40-50 segundos, mientras que el día 3 este tiempo se había reducido a 10-25 segundos. La escopolamina (0,5 mg/kg i.p.) produjo una atenuación del aprendizaje estadísticamente significativa ($p < 0,025$, prueba t de Student con ajuste de Bonferroni) en comparación con los animales tratados con vehículo. El inhibidor de acetilcolinesterasa donepezilo (3 mg/kg i.p.) y el compuesto 1 agonista del receptor 5-HT₄ no tuvieron ningún efecto, ni positivo ni negativo, en la capacidad de las ratas para aprender la ubicación de la plataforma sumergida, cuando se administraron solos, es decir, cuando se administraron a animales que no habían estado expuestos a escopolamina. El donepezilo (0,3-3 mg/kg i.p.) revirtió el déficit cognitivo inducido por escopolamina (0,5 mg/kg i.p.) independientemente de la dosis, tal como se muestra en la figura 1, donde se representa la latencia media de escape en el tercer día del ensayo. La dosis de 3 mg/kg de donepezilo produjo una reversión estadísticamente significativa.

Ejemplo 1: efecto del compuesto 1 en el deterioro cognitivo inducido por escopolamina

50 El compuesto 1 se ensayó a unas dosis de 0,01, 0,03, 0,1 y 1 mg/kg en el modelo del laberinto acuático de Morris con ratas. Como muestra en la figura 2, donde se representa la latencia media de escape en el tercer día de prueba, el compuesto 1 se relacionó con la reversión del deterioro de la memoria producido por 0,5 mg/kg de escopolamina. El efecto del compuesto 1 a una dosis de 0,1 mg/kg alcanzó significación estadística con respecto a la escopolamina (0,5 mg/kg). Fue evidente una curva dosis-respuesta "en forma de U"; la dosis más alta del compuesto 1, 1 mg/kg, no produjo ningún efecto sobre la respuesta inducida por escopolamina, a diferencia de la dosis de 0,1 mg/kg. El Compuesto 1 (0,1 mg/kg i.p.) produjo una reversión similar a la del donepezilo (3 mg/kg i.p.) el día 3 (es decir, en el intervalo del 50-60%, véase figura 1).

Ejemplo 2: efecto del compuesto 1 junto con un antagonista del receptor 5-HT₄ en el deterioro cognitivo inducido por escopolamina

60 A fin de comprobar si los efectos observados con el compuesto 1 se podían atribuir al agonismo del receptor 5-HT₄, el compuesto 1 se ensayó junto con GR125487, un compuesto antagonista selectivo del receptor 5-HT₄. Como se muestra en la figura 3, el GR125487 (1 mg/kg i.p.) no tuvo ningún efecto cuando se administró solo. Sin embargo la coadministración del antagonista GR125487 (1 mg/kg i.p.) eliminó la capacidad del compuesto 1 (0,1 mg/kg i.p.) para revertir el deterioro cognitivo inducido por escopolamina. Por consiguiente es razonable concluir que los efectos observados del compuesto 1 son debidos al agonismo del receptor 5-HT₄.

Ejemplo 3: efecto de la administración conjunta del compuesto 1 junto con el inhibidor de acetilcolinesterasa donepezilo en el deterioro cognitivo inducido por escopolamina

5 El efecto de la coadministración del compuesto 1 y el donepezilo se ilustra en la figura 4. Ni el compuesto 1 a una dosis de 0,01 mg/kg ni el donepezilo a una dosis de 0,1 mg/kg tuvieron un efecto significativo al administrarlos por separado. Sin embargo las mismas dosis de compuesto 1 y donepezilo, formuladas conjuntamente en 5% de DMSO y 95% de suero fisiológico estéril, dieron como resultado una atenuación notable del declive cognitivo inducido por escopolamina.

10 Ejemplo 4: estudio *in vitro* del efecto del compuesto 1 en la liberación extracelular de sAPP α en células HEK293-5-HT_{4(d)}-APP₆₉₅

Cultivo celular

15 Se cultivaron células HEK-293 (de riñón embrionario humano) transfectadas establemente con ADNc del receptor 5-HT_{4(d)} humano y ADNc humano APP695 (HEK293-5-HT_{4(d)}-APP₆₉₅) en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) que contenía D-glucosa, suplementado con 10% de suero bovino fetal, GlutaMax-1 2 mM y 100 unidades de penicilina (100 μ g) y 100 μ g/ml de estreptomycin, en una incubadora humidificada, con 5% de CO₂ a 37°C. Las células se cultivaron bajo presión de selección continua mediante la adición de antibiótico G418 (500 μ g/ml).

20 Liberación de sAPP α

25 Se privaron de suero células HEK293-5-HT_{4(d)}-APP₆₉₅ (3 x 10⁵ células/pocillo) durante 4 horas antes de incubarlas con agonistas durante 30 minutos (de no indicarse otra cosa) a 37°C. El medio de cultivo se aspiró, se centrifugó para eliminar los residuos celulares y se determinó el nivel de sAPP α por Western blot. La sAPP α se detectó usando el anticuerpo 6E10 (Signet/Covance) y un 2º anticuerpo de cabra anti-ratón conjugado con HRP. Se visualizaron las bandas inmunorreactivas correspondientes a la sAPP α y se cuantificaron con sustrato ECL (Pierce) y un sistema de imagen FluorChem HD2 (Alpha Innotech). El análisis Western blot de las muestras se realizó por duplicado.

30 Resultados

35 Los datos de potencia se indican como valores pEC₅₀, el logaritmo decimal negativo del valor EC₅₀, siendo EC₅₀ la concentración efectiva para una respuesta máxima del 50%. Los compuestos de ensayo que muestran un valor de pEC₅₀ más alto en este estudio tienen una mayor potencia para estimular la liberación de sAPP α . Para determinar los valores de CE₅₀, los datos de ensayos independientes se ajustaron simultáneamente a una curva sigmoide de concentración-respuesta mediante el programa informático Graph Pad Prism (pendiente limitada a la unidad). Los datos de potencia para el compuesto 1 junto con el porcentaje de respuesta relativa al efecto del ligando endógeno 5-HT a una concentración de 1 μ M se indican a continuación:

	pEC ₅₀	E _{máx} (% de respuesta relativa a 5-HT 1 μ M)
Compuesto 1	8,2	91

40 El efecto del antagonista selectivo del receptor 5-HT₄ GR113808 se analizó incubando las células durante 10 min con GR113808 1 μ M antes de incubarlas con el compuesto 1 a una concentración de 100 nM, una concentración a la cual los compuestos provocaban una respuesta máxima o casi máxima. El antagonista bloqueó completamente el efecto del compuesto 1, lo cual indica que la liberación de sAPP α observada está relacionada con el agonismo del receptor 5-HT₄.

45

REIVINDICACIONES

- 5 1. Ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico $\{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2\text{-hidroxi-3-(metanosulfonil-metil-amino)propil}]-8\text{-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il}\}$ amida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un inhibidor de acetilcolinesterasa, para emplearlo en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o de un trastorno cognitivo.
- 10 2. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en que dicho tratamiento, dicho compuesto y dicho inhibidor de acetilcolinesterasa están presentes en una dosis subeficaz para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o de un trastorno cognitivo cuando se administran independientemente.
- 15 3. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 1 o con la reivindicación 2, en que el inhibidor de acetilcolinesterasa es hidrocioruro de donepezilo.
- 20 4. El compuesto de la reivindicación 1 en combinación con un inhibidor de acetilcolinesterasa para usarlo como potenciador de la memoria en un paciente con déficit memorístico.
- 25 5. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 4, en que dicho tratamiento, dicho compuesto y dicho inhibidor de acetilcolinesterasa están presentes en una dosis subeficaz para potenciar la memoria de un paciente con déficit memorístico, cuando se administran independientemente.
- 30 6. Ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico $\{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2\text{-hidroxi-3-(metanosulfonil-metil-amino)propil}]-8\text{-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il}\}$ amida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como potenciador de la efectividad de un inhibidor de acetilcolinesterasa para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o de un trastorno cognitivo.
- 35 7. Composición farmacéutica que comprende un inhibidor de acetilcolinesterasa, ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico $\{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2\text{-hidroxi-3-(metanosulfonil-metil-amino)propil}]-8\text{-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il}\}$ amida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 40 8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en que el inhibidor de acetilcolinesterasa es hidrocioruro de donepezilo.
- 35 9. Uso de ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxílico $\{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2\text{-hidroxi-3-(metanosulfonil-metil-amino)propil}]-8\text{-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il}\}$ amida o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la preparación de un medicamento para tratar la enfermedad de Alzheimer o un trastorno cognitivo en un paciente, de manera que dicho tratamiento consiste en administrar dicho compuesto en combinación con un inhibidor de acetilcolinesterasa.
- 40 10. Uso de la reivindicación 9, en que el medicamento lleva una dosis de dicho compuesto y de dicho inhibidor de acetilcolinesterasa que es subeficaz para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o de un trastorno cognitivo cuando se administran independientemente.

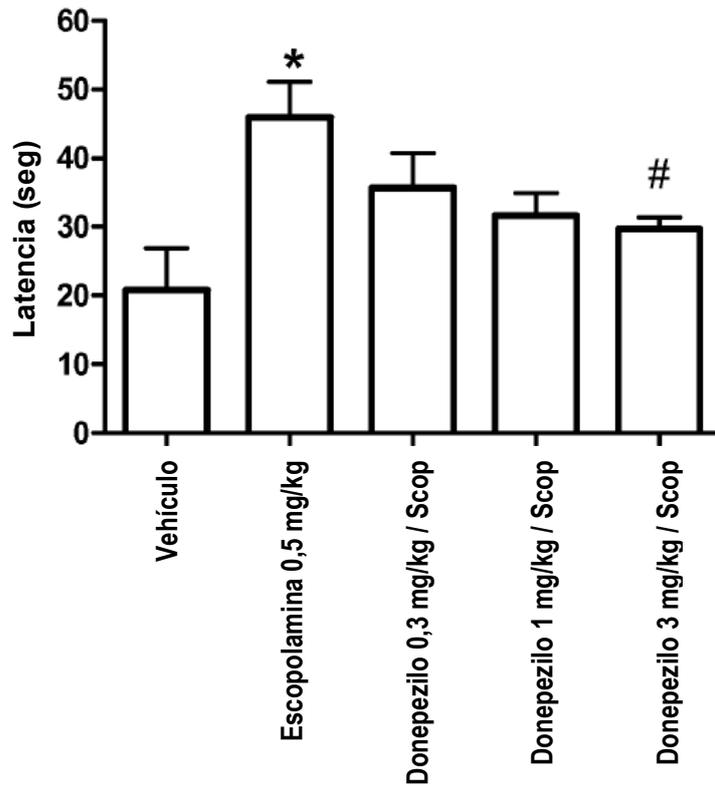


Figura 1

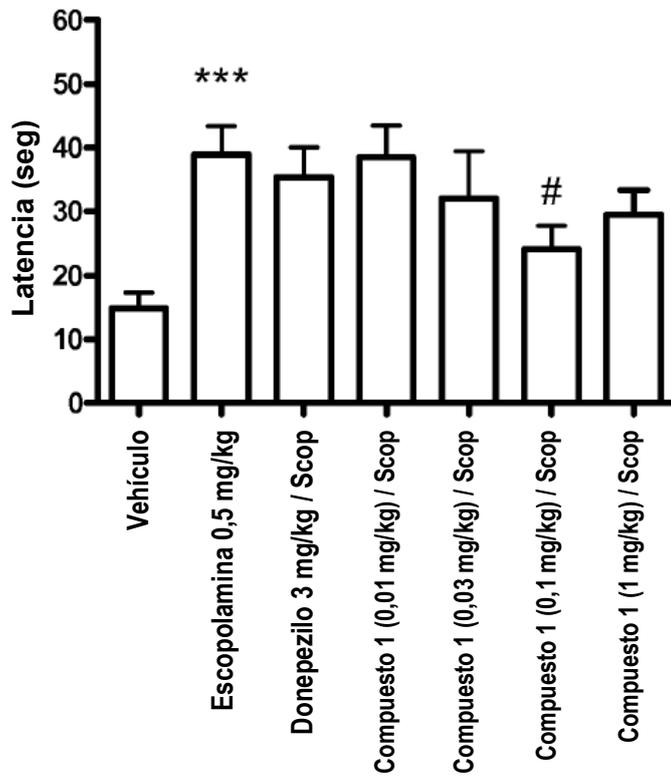


Figura 2

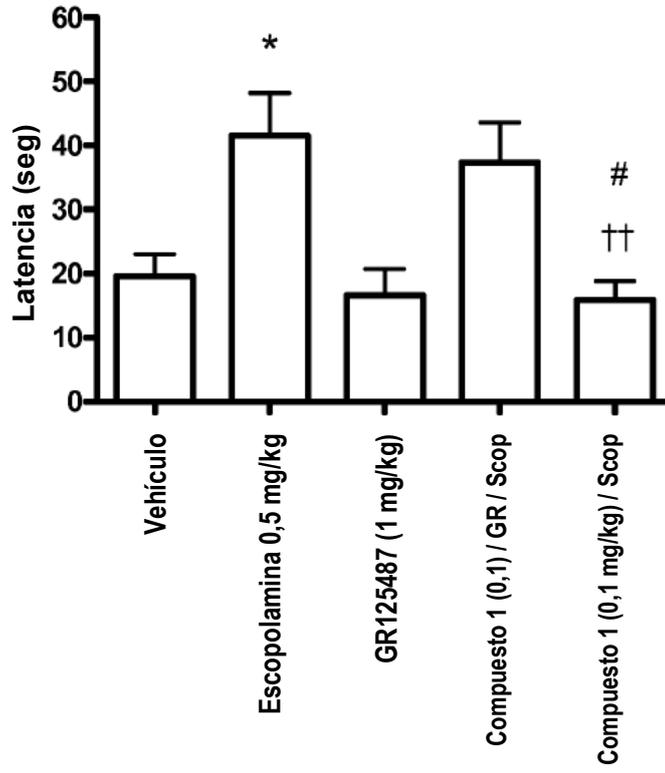


Figura 3

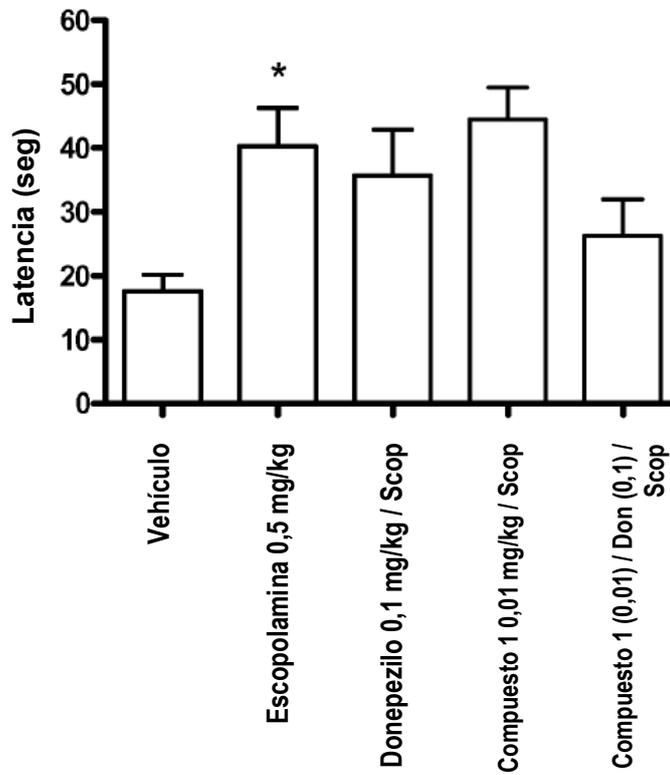


Figura 4