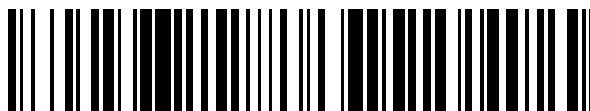


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 630**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/27 (2006.01)

A61K 31/4045 (2006.01)

A61K 31/445 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.09.2013** **PCT/EP2013/068516**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.03.2014** **WO14037532**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.09.2013** **E 13759195 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2018** **EP 2892563**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas para tratar la enfermedad de Alzheimer**

30 Prioridad:

09.09.2012 US 201261698664 P

14.03.2013 US 201361782084 P

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

11.03.2019

73 Titular/es:

H. LUNDBECK A/S (100.0%)

Ottiliavej 9

2500 Valby, DK

72 Inventor/es:

SCHMIDT, ELLEN y

AREBERG, JOHAN

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 703 630 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

Composiciones farmacéuticas para tratar la enfermedad de Alzheimer

Campo de la invención

La presente divulgación describe métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer que comprenden administrar una dosis eficaz del Compuesto I para mejorar o aumentar el efecto de un inhibidor de la acetilcolinesterasa tal como donepezilo o rivastigmina. Se describen además composiciones farmacéuticas que comprenden el Compuesto I.

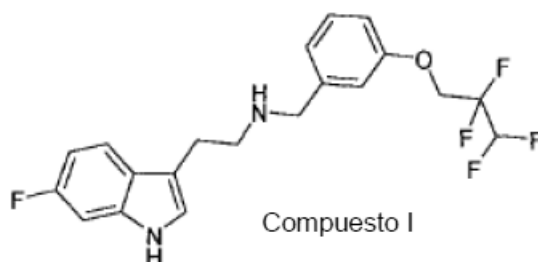
Antecedentes de la técnica

La demencia es un síndrome clínico caracterizado por déficits en múltiples áreas de la cognición que no se pueden explicar por el envejecimiento normal, un declive evidente de la función y una ausencia de delirio. Además, suelen estar presentes síntomas neuropsiquiátricos y hallazgos neurológicos focales. La demencia se clasifica también en base a la etiología. La enfermedad de Alzheimer (AD) es la causa más común de demencia, seguida de la demencia mixta de enfermedad de Alzheimer con demencia vascular, la demencia vascular, la demencia con cuerpos de Lewy (DLB) y la demencia fronto-temporal.

Se espera que la incidencia de la enfermedad de Alzheimer aumente hasta el año 2050 con una prevalencia estimada de 11 a 16 millones de casos. Actualmente, hay dos clases de fármacos aprobados por la FDA para el control de los síntomas de la AD - los inhibidores de la acetilcolinesterasa (los AChEI) y un antagonista del receptor de la N-metil-D-aspartasa (NMDA). Los AChEI se usan comúnmente como tratamiento inicial en el diagnóstico. Los AChEI - donepezilo, rivastigmina, galantamina y tacrina - están indicados para la enfermedad de Alzheimer de leve a moderada; solamente el donepezilo está aprobado para la etapa severa.

A pesar de las terapias disponibles, no existen tratamientos para curar la AD ni para prevenir o detener el avance de la enfermedad. Los inhibidores de la acetilcolinesterasa no ayudan a todas las personas que tienen la enfermedad de Alzheimer y, de hecho, no son eficaces en muchos pacientes. Teniendo en cuenta que los AChEI y la memantina tienen solamente un efecto sintomático modesto y no pueden evitar el deterioro por la AD ni el lento empeoramiento de la enfermedad, existe una gran necesidad no satisfecha de tratamientos sintomáticos más eficaces y de terapias para una modificación/desaceleración de la enfermedad.

Se ha sugerido el uso de antagonistas selectivos del receptor 5-HT₆ para tratar la disfunción cognitiva y se basa en varias líneas de razonamiento. Por ejemplo, se ha demostrado que los antagonistas selectivos del receptor 5-HT₆ modulan la función neuronal colinérgica y glutamatérgica. La actividad de los antagonistas selectivos del receptor 5-HT₆ se ha demostrado en modelos animales de función cognitiva. Desde la divulgación de los primeros antagonistas selectivos del receptor 5-HT₆, ha habido varios informes sobre la actividad de estos compuestos selectivos en modelos de la función cognitiva *in vivo*. La N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-yl)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)benzilamina (denominada en la presente memoria "Compuesto I") es un antagonista potente y selectivo del receptor 5-HT₆ que ha estado en desarrollo clínico para tratar el deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia y como tratamiento para la enfermedad de Alzheimer.



En noviembre de 2008, se inició un estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, de dosis fija (120 mg/día BID) para explorar la eficacia y la seguridad del Compuesto I como tratamiento complementario a la risperidona en pacientes con esquizofrenia. La mejoría general en los síntomas de la esquizofrenia se evaluó utilizando la puntuación total de la Escala de Síndrome Positivo y Negativo (PANSS). El Compuesto I no ofreció ninguna ventaja de tratamiento sobre el placebo medido por la puntuación total de PANSS. En 2010, se anunció que parecía no haber ninguna ventaja de tratamiento sobre el placebo para mejorar la función neurocognitiva general de los pacientes evaluada utilizando la puntuación Z compuesta de BACS y las puntuaciones de subescala cognitiva de PANSS.

En 2012, se publicó que un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, realizado en Europa, Canadá y Australia cumplió su criterio principal de valoración en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Los datos

demonstraron que el Compuesto I más 10 mg/día de donepezilo mejoró significativamente la función cognitiva en 278 pacientes con enfermedad de Alzheimer en comparación con placebo más donepezilo, cuando se midió por la subescala cognitiva de la escala de evaluación de la enfermedad de Alzheimer (ADAS-cog). El Compuesto I mostró resultados positivos en los criterios de valoración secundarios, incluyendo las medidas de impresión global y las actividades de la vida diaria en comparación con los pacientes tratados con donepezilo.

La dosis diaria de 90 mg de Compuesto I en el estudio de AD se administró tres veces al día (3 x 30 mg) para superar la semivida relativamente corta observada en los sujetos en estudios clínicos anteriores. Una razón para esa selección de dosis fue asegurar que el nivel de exposición máxima cayera por debajo del límite de exposición máxima que había sido establecido a partir de estudios de toxicología no clínica. Por consiguiente, se introdujo en el estudio una dosis fija de tres veces.

Como el receptor 5-HT₆ es una nueva diana localizada predominantemente en el cerebro, un problema clave en el desarrollo es determinar la cantidad de ocupación del receptor y la correlación con la exposición en plasma. Con las dianas en el sistema nervioso central, existen otros desafíos que giran alrededor de si un fármaco pasará o no la barrera hematoencefálica y si alcanzará o no a la diana a una concentración adecuada y durante un período suficiente de ocupación del receptor.

Las medidas directas en el cerebro de la ocupación del receptor 5-HT₆ pueden ser valiosas para muchos procesos de toma de decisiones durante el desarrollo de fármacos de acción central dirigidos a 5-HT₆ para asegurar el análisis adecuado de prueba de concepto y para optimizar los regímenes de dosificación. En los seres humanos, se han utilizado herramientas tales como la tomografía por emisión de positrones (PET) con ligandos específicos radiomarcados para evaluar cuantitativamente la ocupación *in vivo* de una serie de receptores de neurotransmisores, incluidos los de dopamina, serotonina y benzodiazepinas (Talbot, *et al.*, European Neuropsychopharmacology, 2002, 12, 503-511).

Se desarrolló un ligando eficaz para PET, [¹¹C]-LuPET y desde entonces ha sido evaluado satisfactoriamente para uso humano. El ligando se utilizó posteriormente para determinar la ocupación del receptor 5-HT₆ después de múltiples intervalos de dosis del Compuesto I. En la evaluación de la ocupación del receptor, se administró a los sujetos humanos el compuesto durante al menos tres días en varios regímenes de dosificación.

Los inventores descubrieron que se observaron altas ocupaciones del receptor después de múltiples dosis del Compuesto I y que la ocupación del receptor se mantuvo 24 horas después de la dosis. Los datos generados a partir de un estudio separado de farmacocinética de Fase I en ancianos y los datos generados en el estudio de la enfermedad de Alzheimer anterior han demostrado que la semivida de eliminación del Compuesto I en la población anciana fue más larga (aproximadamente 19 horas) en comparación con los sujetos jóvenes sanos (aproximadamente 12 horas).

Con estos descubrimientos convergentes, los inventores han identificado mejores métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer mediante la introducción de un régimen de dosificación nuevo y mejorado que comprende la administración una vez al día en un nuevo intervalo de dosificación. En base a los hallazgos descritos en la presente memoria, se espera que el intervalo de dosis contemplado sea eficaz a la vez que proporcione niveles de exposición por debajo del NOAEL (nivel sin efecto adverso observable), mejorando de este modo la relación de seguridad. La invención se describe con mayor detalle a continuación.

Sumario de la invención

Sigue existiendo la necesidad de nuevos tratamientos y terapias para la enfermedad de Alzheimer y trastornos relacionados con la enfermedad de Alzheimer, tales como la demencia.

La invención se expone en las reivindicaciones adjuntas. La materia que no está englobada en el alcance de las reivindicaciones no forma parte de la invención reivindicada ahora. Se describen en la presente memoria métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer como terapia complementaria al tratamiento de la acetilcolinesterasa, que comprenden administrar una dosis diaria eficaz de N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina o una sal farmacéuticamente aceptable a un paciente que necesite dicho tratamiento, en donde la dosis diaria eficaz administrada al paciente está entre aproximadamente 30 y aproximadamente 60 mg.

Se describen además en la presente memoria métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer como terapia complementaria al tratamiento de la acetilcolinesterasa, que comprenden administrar una dosis diaria eficaz de N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina o una sal farmacéuticamente aceptable para un paciente que necesite tal tratamiento, en donde la dosis diaria eficaz administrada al paciente está entre aproximadamente 30 y aproximadamente 60 mg.

Se proporciona además N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina o una sal farmacéuticamente aceptable para uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer mediante la mejora o el aumento del efecto de un inhibidor de la acetilcolinesterasa que comprende administrar una dosis diaria eficaz de

dicho compuesto a un paciente que necesite dicho tratamiento, en donde la dosis diaria eficaz administrada al paciente está entre 30 y 60 mg.

5 La invención proporciona también N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina o una sal farmacéuticamente aceptable para uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer como terapia complementaria al tratamiento de la acetilcolinesterasa, que comprende administrar una dosis diaria eficaz de N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina o una sal farmacéuticamente aceptable a un paciente que necesite tal tratamiento, en donde la dosis diaria eficaz administrada al paciente está entre 30 y 60 mg.

Un aspecto de la divulgación se dirige a un método para tratar la enfermedad de Alzheimer de leve a moderada. En una realización, la sal farmacéuticamente aceptable es el hidrocloruro.

10 En otra realización, la dosis se administra como una formulación de liberación inmediata.

En otro aspecto más, el método es para tratar la enfermedad de Alzheimer de leve a moderada.

En otra realización, el inhibidor de la acetilcolinesterasa es donepezilo.

En otra realización, el inhibidor de la acetilcolinesterasa es rivastigmina.

En otra realización, el inhibidor de la acetilcolinesterasa es galantamina.

15 En otra realización, la dosis se administra una vez al día.

20 La realización de la invención mencionada antes que se refiere a la administración una vez al día del Compuesto I tiene claras ventajas para los pacientes. Tales ventajas incluyen pero no se limitan a la facilidad de administración, la comodidad y la observancia por parte del paciente de una dosificación consistente. Sin embargo, ciertas realizaciones de la invención incluyen también, en base a los datos de los solicitantes en esta memoria, la administración del Compuesto I más de una vez al día en cantidades equivalentes a las cantidades descritas en esta memoria en un período de veinticuatro horas. Por lo tanto, las realizaciones de la invención incluyen también lo siguiente:

En una realización, la dosis diaria eficaz es de 30 mg.

En otra realización más, la dosis es la dosis diaria eficaz de 40 mg o menos.

25 En una realización, la dosis es la dosis diaria eficaz de 50 mg o menos.

En otra realización, la dosis es la dosis diaria eficaz de 60 mg o menos.

30 Como se usa en la presente memoria, el Compuesto I es N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina y, por consiguiente, se describe además una composición farmacéutica que comprende el Compuesto I en donde la composición cuando se administra a un ser humano proporciona una concentración en plasma sanguíneo del Compuesto I en un intervalo de aproximadamente 56 ng/mL a aproximadamente 310 ng/mL en nivel plasmático de equilibrio y cuando la composición se administra para proporcionar una dosis diaria eficaz de Compuesto I de aproximadamente 60 mg o menos.

35 Se describe además una composición farmacéutica que comprende el Compuesto I en donde la composición proporciona cuando se administra a un ser humano una ocupación del receptor del Compuesto I mayor o igual a aproximadamente el 90 % en el receptor 5HT-6 a un nivel plasmático de equilibrio y cuando la composición se administra para proporcionar una dosis diaria eficaz de Compuesto I de aproximadamente 60 mg o menos.

40 Se describe además una composición farmacéutica que comprende el Compuesto I en donde la composición proporciona cuando se administra a un ser humano una ocupación del receptor del Compuesto I mayor o igual a aproximadamente el 80 % en el receptor 5HT-6 a un nivel plasmático de equilibrio y cuando la composición se administra para proporcionar una dosis diaria eficaz de Compuesto I de aproximadamente 60 mg o menos.

Se describe además una composición farmacéutica que comprende 60 mg o menos de Compuesto I, en donde la composición cuando se administra a un ser humano proporciona una concentración de Compuesto I en el plasma sanguíneo en un intervalo de aproximadamente 56 ng/mL a aproximadamente 310 ng/mL a nivel plasmático en equilibrio.

45 En una realización, la composición es una formulación de liberación inmediata.

En una realización, la dosis diaria eficaz es 30 mg.

En otra realización más, la dosis diaria eficaz es 40 mg o menos.

En una realización, la dosis diaria eficaz es 50 mg o menos.

Se describen nuevos métodos para tratar y prevenir la demencia causada por enfermedades vasculares; demencia asociada con la enfermedad de Parkinson; demencia con cuerpos de Lewy; demencia por SIDA; deterioros cognitivos leves; deterioros de memoria asociados con la edad; deterioros cognitivos y/o demencia asociada con afecciones neurológicas y/o psiquiátricas, incluyendo epilepsia, tumores cerebrales, lesiones cerebrales, esclerosis múltiple, síndrome de Down, síndrome de Rett, parálisis supranuclear progresiva, síndrome del lóbulo frontal y esquizofrenia y trastornos psiquiátricos relacionados; deterioros cognitivos causados por lesión cerebral traumática, cirugía de injerto de bypass de arteria coronaria posterior, terapia de shock electroconvulsivo y quimioterapia, que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para mejorar o aumentar el efecto de un inhibidor de la acetilcolinesterasa.

Se describen también nuevos métodos para tratar y prevenir el delirio, el síndrome de Tourette, la miastenia grave, el trastorno de hiperactividad con déficit de atención, el autismo, la dislexia, la manía, la depresión, la apatía y la miopatía asociada o causada por la diabetes, que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para mejorar o aumentar el efecto de un inhibidor de la acetilcolinesterasa. La invención describe además nuevos métodos para retrasar la aparición de la enfermedad de Alzheimer, para mejorar las funciones cognitivas, para tratar y prevenir la apnea del sueño, para aliviar el síndrome de abstinencia del tabaco y para tratar las disfunciones de la enfermedad de Huntington, que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para mejorar o aumentar el efecto de un inhibidor de la colinesterasa.

Se describen en la presente memoria métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer mediante la mejora o aumento del efecto de un inhibidor de la acetilcolinesterasa que comprenden administrar una dosis de N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina al menos una vez al día. En un aspecto, la dosis se administra cada dos días.

La invención se describe con más detalle a continuación.

Breve descripción de las figuras.

Figura 1: Curvas de actividad - tiempo (las TAC) de regiones del cerebro seleccionadas, como medias de los escaneados de la línea base de la Parte B (Panel A) y de los escaneados 3 H después de la dosis (B). El putamen y el núcleo caudado mostraron una acumulación de radiactividad claramente alta, mientras que el cerebelo presentó la acumulación más baja entre las regiones del cerebro.

Figura 2: Perfil a lo largo del tiempo de metabolitos radiactivos totales de [^{11}C]LuPET en plasma (Panel A), promediados entre los escaneados de la línea base de la Parte B. Curvas de actividad - tiempo (TAC), totales y metabolitos corregidos en plasma (B) expresados en SUV (valor de captación estandarizado) como promedios de los escaneados de la línea base, limitando el eje y a 1000 nCi/mL para mostrar claramente las TAC de las últimas partes. La entrada estaba destinada a mostrar claramente los picos.

Figura 3: Histogramas (con barras de SEM) del volumen de distribución (V_T) en el cerebelo, Cb (Panel A) obtenidos por PRGA para los escaneados de la línea base (B) y de las 3 horas (3H) y el segundo escaneado post-dosis (P2) y del volumen de distribución del compartimiento no desplazable, V_{ND} obtenido por los gráficos de Lassen del V_T regional de los escaneados de la línea base y de las 3H (3H), y los escaneados de la línea base y P2 (P2) (Panel B).

Figura 4: Histogramas (con barras de SEM) de estimados de la variabilidad test-retest (TRV) del potencial de unión, BP_{ND} para métodos de entrada en plasma (Panel A) y métodos de tejido de referencia (B) en regiones seleccionadas del cerebro. Las líneas de puntos horizontales indican el nivel del 10 %, que a menudo se considera un nivel deseable de TRV.

Figura 5: Histogramas (con barras de SEM) del volumen de distribución V_T (Panel A) en regiones seleccionadas del cerebro obtenidos por PRGA, y potencial de unión, BP_{ND} obtenido por PRGA y RTGA (B).

Figura 6: Histograma de desplazamiento (%) de [^{11}C]LuPET mediante una dosis única de 10 mg de olanzapina en regiones seleccionadas del cerebro (Panel A). Imágenes transaxiales del potencial de unión BP_{ND} en el nivel que muestra el putamen (Pu) y el núcleo caudado (CN) para los escaneados de la línea base (B) y post-olanzapina (C). Las imágenes de BP_{ND} individuales se normalizaron espacialmente y se promediaron entre todos los sujetos (n = 5).

Figura 7: Histogramas (media con barras de SE) de la ocupación de los receptores 5-HT₆ por el Compuesto I mediante un esquema de dosificación para los puntos post-dosis de 3 horas (Panel A) y los segundos (B) puntos post-dosis. Los esquemas de dosificación incluyen 5 mg (5Q; Parte B4) una vez al día o QD, 30 mg QD (30Q; Parte B3), 30 mg b.i.d. (30B; Parte B2) y 60 mg b.i.d. (60B; Parte B1).

Figura 8: Gráficos de ocupación – farmacocinética (concentración plasmática de Compuesto I) para el putamen (Pu), el núcleo caudado (CN) y el estriado ventral (vS) en el punto de tiempo 3 horas post-dosis. Las curvas de predicción del modelo (es decir, los mejores ajustes según la Ecuación 3) se muestran mediante líneas de puntos.

5 Figura 9: Gráficos de ocupación – farmacocinética (concentración plasmática de Compuesto I) para el putamen (Pu), el núcleo caudado (CN) y el estriado ventral (vS) en los puntos de tiempo segundos post-dosis. Las curvas de predicción del modelo (es decir, los mejores ajustes según la Ecuación 3) se muestran mediante líneas de puntos.

Figura 10: Gráficos de ocupación – farmacocinética (concentración plasmática de Compuesto I) para el putamen (Pu), el núcleo caudado (CN) y el estriado ventral (vS) que agrupan dos puntos de tiempo post-dosis. Las curvas de predicción del modelo (es decir, los mejores ajustes según la Ecuación 3) se muestran mediante líneas de puntos.

10 Figura 11: Imágenes transaxiales de potencial de unión, BP_{ND} al nivel que muestra el putamen (Pu) y el núcleo caudado (CN) para los escaneados de la línea base y los escaneados post-dosis de 51 horas (n = 4; una dosis única de 30 mg solamente; C). Como referencia, se muestra en el Panel D una imagen de BP_{ND} de [¹¹C]MDL100.809 de sujetos jóvenes sanos (n = 8). Las imágenes individuales de BP_{ND} se normalizaron espacialmente y se promediaron entre los miembros.

15 Figura 12: Concentraciones plasmáticas de Compuesto I frente a la ocupación del receptor 5-HT₆

Figura 13: Simulación de ocupación de 5-HT₆ en el núcleo caudado en estado de equilibrio para una población con enfermedad de Alzheimer.

Descripción detallada de la invención

20 Antes de describir la invención en detalle, puede ser útil proporcionar definiciones de ciertos términos que se utilizarán en la presente memoria.

25 N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina es un antagonista potente y selectivo del receptor 5-HT₆ en desarrollo clínico para tratar la enfermedad de Alzheimer y se denomina Compuesto I. La síntesis del Compuesto I, su uso para el tratamiento de trastornos de disfunción cognitiva y las composiciones farmacéuticas que comprenden esta sustancia se describen en las patentes de Estados Unidos Números 7.157.488 y 8.044.090. A menos que se especifique otra cosa, o que esté claramente indicado por el texto, la referencia al Compuesto I útil en la terapia de la invención incluye tanto la base libre como todas las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos. Una sal preferida del Compuesto I es el hidrocloreuro.

30 El estudio de la enfermedad de Alzheimer citado en la sección de Antecedentes se denomina en esta solicitud estudio 12936A. El estudio de la esquizofrenia citado en la sección de Antecedentes se denomina en esta solicitud estudio 12450A.

35 En un aspecto de la divulgación, se proporcionan en la presente memoria métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer mediante la mejora o el aumento del efecto de un inhibidor de la acetilcolinesterasa que comprenden administrar una vez al día una dosis eficaz de N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina o una sal farmacéuticamente aceptable a un paciente que necesite tratamiento, en donde el intervalo de dosis está entre aproximadamente 30 y aproximadamente 60 mg. La divulgación proporciona además métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer con el Compuesto I como terapia complementaria de los inhibidores de la acetilcolinesterasa.

Un aspecto de la divulgación se dirige a métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer leve, mientras que un aspecto separado se refiere a métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer moderada.

40 Otro aspecto más se refiere a métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer grave.

Un aspecto se refiere a métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer de leve a moderada.

En una realización, el Compuesto I se administra como una formulación de liberación inmediata.

En otra realización, el Compuesto I se administra como una sal farmacéuticamente aceptable.

En una realización, el Compuesto I se administra como la sal hidrocloreuro.

45 En una realización, el inhibidor de la acetilcolinesterasa es donepezilo.

En otra realización, el inhibidor de la acetilcolinesterasa es rivastigmina.

En otra realización más, el inhibidor de la acetilcolinesterasa es galantamina.

En un aspecto, la dosis es una cantidad entre 10 y 80 mg.

En un aspecto separado, la dosis es una cantidad entre 10 y 70 mg.

En un aspecto, la dosis es una cantidad entre 10 y 60 mg.

En un aspecto, la dosis es una cantidad entre 10 y 50 mg.

5 En un aspecto, la dosis es una cantidad entre 20 y 50 mg.

En un aspecto, la dosis es una cantidad entre 20 y 40 mg.

En un aspecto separado, el compuesto se administra en una dosis de 10 mg.

En un aspecto, el Compuesto I se administra en una dosis de 20 mg.

En una realización, el Compuesto I se administra en una dosis de 30 mg.

10 En una realización, el Compuesto I se administra en una dosis de 40 mg.

En otra realización, el Compuesto I se administra en una dosis de 50 mg.

En una realización, el Compuesto I se administra en una dosis de 60 mg.

En otro aspecto más, el Compuesto I se administra en una dosis de 70 mg.

En un aspecto, el Compuesto I se administra en una dosis de 80 mg.

15 En un aspecto, el Compuesto I se administra en una dosis de 90 mg.

Como se usan en la presente memoria, los siguientes términos tendrán los significados que se indican a continuación:

20 Una "dosis terapéuticamente eficaz" del Compuesto I es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico observable en comparación con los signos y síntomas de la línea base de la enfermedad de Alzheimer clínicamente observables medidos por ADAS-cog, y de la demencia relacionada con la enfermedad de Alzheimer tratadas en conexión con la terapia de combinación.

25 "Liberación inmediata" significa incluir una liberación convencional, en la cual la liberación del fármaco empieza inmediatamente después de la administración. Como se usa en la presente memoria, el término "liberación inmediata" incluye formas farmacéuticas que permiten que el fármaco se disuelva en el contenido gastrointestinal, sin intención de retrasar ni prolongar la disolución o la absorción del fármaco. El objetivo es que el fármaco sea liberado rápidamente después de la administración, por ejemplo, para ello debe ser posible liberar al menos el 80 % del fármaco anti-demencia en aproximadamente 30 minutos después del comienzo de la disolución en un ensayo de disolución.

30 El término "inhibidor de la acetilcolinesterasa" es conocido por los expertos en la técnica e incluye compuestos seleccionados del grupo que consiste en donepezilo, rivastigmina, galantamina y tacrina. Las dosis aprobadas por la FDA del inhibidor de la acetilcolinesterasa están incluidas en la presente invención. Por ejemplo, los métodos cubren las dosis de donepezilo que han demostrado ser eficaces en ensayos clínicos controlados para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer de leve a moderada que son 5 mg o 10 mg administrados por vía oral una vez al día. También ha sido aprobada una dosis de 23 mg por vía oral una vez al día de donepezilo para tratar la enfermedad de Alzheimer de moderada a grave.

35 El término "nivel plasmático en equilibrio" significa que se ha alcanzado un nivel plasmático para el Compuesto I y que se mantiene con las dosis posteriores de Compuesto I (preferiblemente se mantiene Css).

El término "diario" significa un período dado y continuo de veinticuatro (24) horas.

40 El término "dosis" se usa en la presente memoria para indicar la administración del Compuesto I en una forma farmacéutica al paciente a ser tratado. En algunas realizaciones, la dosis es una formulación oral única. En algunas realizaciones, la dosis se formula como un comprimido, una cápsula, una píldora o un parche administrado al paciente.

45 El término "dosis diaria eficaz" significa la cantidad total de Compuesto I administrada a un paciente que necesita tratamiento en un período continuo de veinticuatro (24) horas. Como un ejemplo no limitativo utilizado en la presente memoria únicamente para ilustrar el significado del término, una dosis diaria eficaz de 90 mg significará e incluirá administrar una dosis única de 90 mg en un período de veinticuatro horas, administrar dos dosis de 45 mg cada una

en un período de veinticuatro horas, y administrar tres dosis de 30 mg cada una en un período de veinticuatro horas, y así sucesivamente. Cuando se administra el Compuesto I de esa manera, es decir, más de una vez en un período de veinticuatro horas, dichas administraciones se pueden distribuir uniformemente durante el período de veinticuatro horas o incluso se pueden administrar simultáneamente o casi simultáneamente.

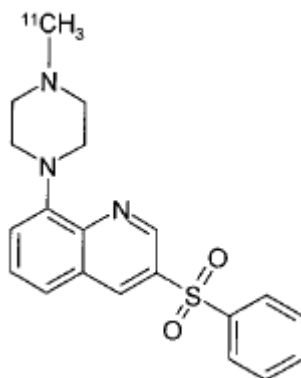
- 5 El término "intervalo de dosis" como se usa en la presente memoria se refiere a un límite superior e inferior de una variación aceptable de la cantidad de agente especificada. Típicamente, se puede administrar una dosis del agente en cualquier cantidad dentro del intervalo especificado a los pacientes sometidos a tratamiento.

- 10 El término "tratar" se usa en la presente memoria para significar mejorar, reducir o aliviar al menos un síntoma de una enfermedad en un sujeto. Por ejemplo, en relación con la demencia, el término "tratar" puede significar mejorar o aliviar el deterioro cognitivo (tal como el deterioro de la memoria y/o de la orientación) o el deterioro del funcionamiento global (funcionamiento general, incluyendo las actividades de la vida diaria) y/o frenar o invertir el empeoramiento progresivo en el deterioro global o cognitivo.

- 15 El término "sujeto" pretende incluir animales, que son capaces de sufrir o padecer demencia asociada con un trastorno del sistema nervioso central, incluyendo, sin limitación, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, el síndrome de Down y la demencia cerebrovascular, o cualquier trastorno que implique, directa o indirectamente, la enfermedad de Alzheimer. En ciertas realizaciones, el sujeto es un ser humano, por ejemplo, un ser humano que padece, que está en riesgo de padecer o que es potencialmente capaz de padecer la enfermedad de Alzheimer o demencia asociada con la enfermedad de Alzheimer, o demencia con cuerpos de Lewy.

- 20 El uso de los términos "un" y "una" y "el" y "la" en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) se debe interpretar de modo que cubra tanto el singular como el plural, a menos que se indique otra cosa en la presente memoria o se contradiga claramente por el contexto. Los términos "que comprende", "que tiene" "que incluye" y "que contiene" se deben interpretar como términos abiertos (es decir, significan "que incluyen, pero no están limitados a") a menos que se indique otra cosa. La enumeración de intervalos de valores en la presente memoria se pretende simplemente que sirva como un método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado que cae dentro del intervalo, a menos que se indique otra cosa en esta memoria, y cada valor separado se incorpora a la memoria descriptiva como si se hubiera indicado individualmente en la presente memoria.

El ligando de PET utilizado en el estudio de Topografía por Emisión de Positrones descrito en la Sección Experimental se conoce como [^{11}C]LuPET y tiene la siguiente estructura:



30

Sales farmacéuticamente aceptables

- La presente invención comprende también sales del Compuesto I, típicamente, las sales farmacéuticamente aceptables. Tales sales incluyen sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácidos incluyen sales de ácidos inorgánicos así como de ácidos orgánicos. Ejemplos representativos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen los ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, fosfórico, sulfúrico, sulfámico, nítrico y similares. Ejemplos representativos de ácidos orgánicos adecuados incluyen los ácidos fórmico, acético, tricloroacético, trifluoroacético, propiónico, benzoico, cinámico, cítrico, fumárico, glicólico, itacónico, láctico, metanosulfónico, maleico, málico, malónico, mandélico, oxálico, pícrico, pirúvico, salicílico, succínico, metanosulfónico, etanosulfónico, tartárico, ascórbico, pamoico, bismetileno salicílico, etanodisulfónico, glucónico, citracónico, aspártico, esteárico, palmítico, EDTA, glicólico, p-aminobenzoico, glutámico, bencenosulfónico, p-toluenoscópico, ácidos teofilina acéticos, así como las 8-haloteofilinas, por ejemplo, 8-bromoteofilina y similares. Otros ejemplos de sales de adición de ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptables incluyen las sales

40

farmacéuticamente aceptables listadas en Berge, *et al.*, J. Pharm. Sci. 1977, 66, 2, cuyos contenidos se incorporan a esta memoria como referencia.

Además, el Compuesto I y sus sales pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares.

5 Composiciones farmacéuticas

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto I y, opcionalmente, un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. El Compuesto I se puede administrar solo o en combinación con vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables, en dosis únicas o múltiples. Las composiciones farmacéuticas según la invención se pueden formular con vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables, así como con otros adyuvantes y excipientes conocidos de acuerdo con técnicas convencionales tales como las descritas en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995.

Los vehículos farmacéuticos adecuados incluyen diluyentes o agentes de carga sólidos inertes, solución acuosa estéril y diversos disolventes orgánicos. Ejemplos de vehículos sólidos son lactosa, terra alba, sacarosa, ciclodextrina, talco, agar, pectina, goma arábiga, ácido esteárico y éteres de alquilo inferior y celulosa, almidón de maíz, almidón de patata, talco, estearato de magnesio, gelatina, lactosa, gomas y similares. Se pueden usar otros adyuvantes o aditivos que se usan habitualmente para dichos fines, tales como colorantes, saborizantes, conservantes, etc., siempre que sean compatibles con los ingredientes activos.

Las composiciones farmacéuticas formadas combinando el Compuesto I y los vehículos farmacéuticamente aceptables se administran entonces fácilmente en una variedad de formas farmacéuticas adecuadas para las vías de administración descritas. Las formulaciones se pueden presentar en formas farmacéuticas por métodos conocidos en la técnica de la farmacia.

Las formulaciones de la presente invención adecuadas para administración oral se pueden presentar como unidades discretas, tales como cápsulas o comprimidos, que contienen cada una, una cantidad predeterminada del ingrediente activo, y que pueden incluir uno o más excipientes adecuados. Las formulaciones oralmente disponibles pueden estar en la forma de un polvo o gránulos, una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite. Si se utiliza un vehículo sólido para la administración oral, la preparación se puede comprimir en comprimidos, se puede llenar en una cápsula de gelatina dura en forma de polvo o pellet o puede estar en forma de una pastilla o comprimido para chupar.

Sin limitar el alcance de la invención, un ejemplo de una formulación de liberación inmediata de una dosis de 30 mg una vez al día de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto I es el siguiente:

Compuesto I monohidrocloreuro	32,75 mg
Fosfato de calcio dibásico	222,0 mg
Dióxido de silicio coloidal NF (Aerosil 200)	3,900 mg
Estearato de magnesio NF (Grado Vegetal)	1,300 mg

La formulación se puede encapsular en una cápsula de gelatina de tamaño # 3.

De una manera similar, se pueden preparar composiciones farmacéuticas que comprenden la administración del Compuesto I en donde los intervalos de dosis administrados están entre 30 mg y 60 mg.

Métodos de tratamiento

Se describe en la presente memoria una terapia de combinación útil para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer leve, moderada y grave, así como de los síntomas asociados con la enfermedad de Alzheimer de leve a moderada. Como se expone más adelante, los métodos descritos en esta memoria tienen una serie de ventajas.

El término "enfermedad de Alzheimer" se refiere a una enfermedad progresiva del sistema nervioso central humano. Se manifiesta por demencia típicamente en los ancianos, por desorientación, pérdida de memoria, dificultad con el lenguaje, cálculo o habilidades visuales-espaciales, y por manifestaciones psiquiátricas. Se asocia con la degeneración de las neuronas en varias regiones del cerebro. El término "demencia" como se usa en esta memoria incluye, pero no se limita a, demencia de Alzheimer con o sin síntomas psicóticos.

En un aspecto particular, los métodos terapéuticos proporcionados en la presente memoria son eficaces para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer leve, moderada y grave en un sujeto. Las fases de la enfermedad de Alzheimer incluyen además el "declive cognitivo moderadamente grave", conocido también como "enfermedad de

- 5 Alzheimer moderada o de estadio medio"; "declive cognitivo grave", conocido también como "enfermedad de Alzheimer moderadamente grave o de estadio medio"; y "declive cognitivo muy grave", conocido también como "enfermedad de Alzheimer grave o de estadio final". El declive cognitivo moderadamente grave se caracteriza porque surgen grandes lagunas en la memoria y déficits en la función cognitiva. En este estadio, es esencial cierta asistencia con las actividades cotidianas. En el declive cognitivo grave, las dificultades de memoria continúan empeorando, pueden surgir cambios significativos en la personalidad y las personas afectadas necesitan una importante ayuda con las actividades cotidianas habituales. El último estadio de la enfermedad de Alzheimer o declive cognitivo muy grave es la etapa final de la enfermedad cuando los individuos pierden la capacidad de responder a su entorno, la capacidad de hablar, y finalmente de controlar el movimiento.
- 10 En otro aspecto, el paciente a ser tratado por la terapia de combinación de la invención tiene una puntuación MMSE entre 12 y 22. "MMSE" se refiere al Mini-Mental State Examination utilizado en la comunidad de evaluación cognitiva.

Sección experimental

Tabla de abreviaturas

5-HT _{2A}	Receptor de 5-hidroxitriptamina 2A
5-HT ₆	Receptor de 5-hidroxitriptamina 6
%	Porcentaje
AD	Enfermedad de Alzheimer
AIC	Criterio de información de Akaike
ANOVA	Análisis de varianza
A(T)	Concentración de radiactividad del radioligando en una región del cerebro en el tiempo t después de la inyección (unidades)
B _{disponible}	Densidad de receptores disponibles (no ocupados) para unirse al radioligando <i>in vivo</i> (nmol.L ⁻¹ o nmol de receptor.1000 cm ⁻³ de tejido)
BP _{ND}	Potencial de unión <i>in vivo</i> (sin unidad)
°C	Grados Celsius
CIAS	Deterioro cognitivo asociado con esquizofrenia
COV	Coeficiente de variación
CRO	Organización de contratos de investigación
C(t)	Concentración de radiactividad del radioligando en plasma en el tiempo t después de la inyección
D	BP _{ND} post-dosis
ECG	Electrocardiograma
EC ₅₀	Concentración eficaz que causa el 50 % de la ocupación máxima
eg	por ejemplo
f _{ND}	Fracción libre en compartimento no desplazable (sin unidad)
FWHM	Anchura completa a la mitad máxima
g	gramos
h	horas
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
HRRT	Tomografía de investigación de alta resolución
ie	esto es
IRB	Consejo de revisión institucional
iv	Intravenoso
JHU	Johns Hopkins University
K ₁	Constante de la velocidad para transferir del plasma arterial al tejido (mL/min/g o mL/min/cm ³)
k ₂	Constante de la velocidad de aclaramiento fraccional de cerebro a sangre del radioligando (min ⁻¹)
k ₂ '	Constante del eflujo de vuelta al plasma; véase Koeppe <i>et al.</i> , 1991
k ₃	Constante de asociación del radioligando (min ⁻¹)
k ₄	Constante de velocidad de disociación del radioligando (min ⁻¹)
K _D	Constante de disociación

μg	microgramos
mCi	milicurios
mg	miligramos
mL	mililitros
min	Minutos
MRI	Imagen por resonancia magnética
n	número
ng	nanogramos
OBD	Densidad óptima del lecho, una marca comercial de Waters Corporation, Milford, MA
O_{max}	Ocupación máxima
OTCM	Modelo compartimental de un tejido
PET	Tomografía de emisión de positrones
pH	Representación logarítmica inversa de la concentración relativa de protones de hidrógeno (H^+)
PI	Investigador principal
PK	Farmacocinética
po	per os, oral
PRGA	Análisis gráfico de referencia de plasma
RO	Ocupación del receptor
R^2	Coefficiente de determinación para regresión lineal
SPGR	Gradiente eco dañado, un tipo de adquisición de datos para MRI
T	tesla
TACs	Curvas de (radio)actividad - tiempo
TTCM-UC	Método de modelo bicompartimental de tejidos con 5 parámetros
TTCM-C	Método de modelo bicompartimental de tejidos constreñidos con 5 parámetros
V_0	Volumen vascular en tejido (mL/mL)
V_{ND}	Volumen de distribución no desplazable, dado como la relación K_1-k_2 en TTCM-UC y TTCM-C (mL/mL)
V_{T}	Volumen total de distribución (mL/mL)
VOI	Volúmenes de interés
Estructuras del cerebro	
Am	amígdala
Cb	cerebelo
Cg	corteza cingulada
CN	núcleo caudado
Fr	corteza frontal
Fs	gro fusiforme
GP	globo pálido
Hp	hipocampo
In	corteza insular
Oc	corteza occipital
Pa	corteza parietal
PH	parahipocampo
Pu	putamen
vS	estriado ventral
Th	tálamo
Tp	corteza temporal

Ejemplo 1 (referencia). Preparación de [^{11}C]LuPET

El precursor es 3-fenilsulfonil-8-(piperazin-1-il)quinolina ($\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$; peso molecular: 353,4) y es un compuesto conocido y descrito públicamente. El precursor se disolvió en acetonitrilo y se transfirió a un sistema BioScan Autoloop y se hizo reaccionar con [^{11}C]-yodometano preparado como sigue. $^{11}\text{CO}_2$ preparado a partir de bombardeo de gas nitrógeno de alta pureza que contenía de 0,5 a 1,0 % de oxígeno con protones acelerados, se hizo reaccionar con hidrógeno en una columna de catalizador níquel-tamices moleculares a 380 °C para producir $^{11}\text{CH}_4$, que se hizo reaccionar con vapor de yodo calentado a 740 °C para formar $^{11}\text{CH}_3\text{I}$. Se arrastró el [^{11}C]-yodometano a través de un horno que contenía triflato de plata para convertir el yodometano radiomarcado en [^{11}C]triflato de metilo. Se arrastró el [^{11}C]triflato de metilo al sistema de metilación en bucle utilizando gas helio a un caudal de aproximadamente 20 mL/min a temperatura ambiente. La acumulación de [^{11}C]-radiactividad en el bucle se monitorizó con un monitor de radiación local hasta que la radioactividad alcanza un estancamiento. Se dejó permanecer la mezcla de reacción en el bucle a temperatura ambiente durante 4,5 minutos. Se purificó el [^{11}C]LuPET crudo por cromatografía líquida preparativa de alta presión (HPLC) utilizando una columna Waters XBridge Prep OBD C18 10 μm 10 x 150 mm con 30 % de acetonitrilo:70 % de tampón acuoso (TEA 57 mM ajustado a pH 7,2 con ácido o-fosfórico) utilizando un caudal de 10 mL/min. La fracción de [^{11}C]LuPET determinada con un detector radiométrico en línea se recogió en un depósito de agua. Se presurizó el depósito para cargar el [^{11}C]LuPET sobre la columna Sep-Pak C18. Se lavó después la Sep-Pak C18 con 10 mL de solución de cloruro de sodio para inyección al 0,9 %. El [^{11}C]LuPET se eluye de la Sep-Pak C18 con 1 mL de etanol seguido por 10 mL de solución de cloruro de sodio para inyección al 0,9 %, a través de un filtro esterilizante de 0,22 μ en un vial estéril libre de pirógenos que ha sido precargado con 4 mL de solución de cloruro de sodio para inyección.

Ejemplo 2. Experimentos de topografía por emisión de positrones (partes A y B)

Como el radioligando no había sido administrado previamente a seres humanos, se evaluó inicialmente en el cerebro humano para identificar un método óptimo para cuantificar y validar el radioligando como un marcador de PET (Parte A). El objetivo principal de este estudio era evaluar la ocupación de los receptores 5-HT₆ después de múltiples dosis orales de Compuesto I en sujetos sanos utilizando PET con [^{11}C]LuPET como radioligando (Parte B).

Sujetos

Ocho sujetos varones sanos (edad: $30,6 \pm 7,7$ años; intervalo: 22 - 44 años) participaron en la Parte A, y dieciséis sujetos varones sanos (edad: $32,3 \pm 7,6$ años; intervalo: 21 - 44 años) participaron en la Parte B de este estudio.

Experimentos de PET

Los estudios de PET se realizaron en el tomógrafo GE Advance (GE Medical Systems, Waukesha, WI, USA). Los sujetos tenían un catéter venoso para la inyección del radioligando y un catéter arterial para obtener muestras de sangre arterial para la determinación de radiactividad en plasma. Después, los sujetos se colocaron en el escáner con la cabeza cubierta con una máscara termoplástica hecha a medida para reducir el movimiento de la cabeza durante la adquisición de datos de PET. Después, se realizó un escaneado de atenuación de 10 minutos utilizando una fuente giratoria de ^{68}Ge para la corrección de la atenuación. La adquisición dinámica de PET se realizó entonces en modo tridimensional durante 90 minutos después de una inyección intravenosa en bolo de [^{11}C]LuPET. Se obtuvieron un total de 30 imágenes de PET (4 x 15, 4 x 30, 3 x 60, 2 x 120, 5 x 240 y 12 x 300 segundos). Se recogieron muestras de sangre arterial a intervalos muy cortos (<5 s) inicialmente y gradualmente a intervalos prolongados (cada 15 min después de 30 min) a lo largo del estudio de PET para determinar la radioactividad en plasma. Las muestras seleccionadas tomadas a 0, 5, 10, 30, 45, 60 y 90 minutos se analizaron mediante HPLC para determinar la presencia del radioligando y sus metabolitos radiactivos como se describe en otro lugar (Hilton *et al.*, 2000).

En la Parte A, se repitieron los escaneados de la línea base el mismo día ($n = 1$) o en días separados ($n = 7$) variando de 1 a 18 días para analizar la reproducibilidad de las variables de resultado de la PET. Se realizó un tercer escaneado 5 horas después de una dosis única (10 mg) de olanzapina ($n = 5$), utilizada como un compuesto estándar con alta afinidad por el receptor 5-HT₆.

En la Parte B, un escaneado de la línea base fue seguido por un escaneado post-dosis a las 3 horas (escaneado 3H) y a las 10, 11, 27 o 51 horas (segundo escaneado post-dosis, P2) después de un mínimo de tres días de administración oral de Compuesto I.

Reconstrucción de los datos de PET: los escaneados de emisión de PET se reconstruyeron utilizando el algoritmo de retroproyección con un filtro de rampa utilizando el software proporcionado por el fabricante para corregir la atenuación, la dispersión y el tiempo muerto (Kinahan and Rogers, 1989). Se corrigió la radioactividad por el deterioro físico al tiempo de inyección. Cada imagen de PET consistió en 128 (de izquierda a derecha) por 128 (*nasion-to-inion*) por 35 (de cuello a cráneo) voxels. La resolución espacial esperada en esta configuración de reconstrucción

fue de 5,5 y 6,1 mm de anchura total en la mitad máxima (FWHM) en las direcciones radial y tangencial, respectivamente, en un radio de 10 cm desde el centro del campo de visión (Lewellen *et al.*, 1996).

Adquisición de MRI

- 5 En otra ocasión, se obtuvo una secuencia de MRI en gradiente degradado (SPGR) en cada sujeto para la identificación anatómica de las estructuras de interés utilizando los siguientes parámetros: Tiempo de repetición, 35 ms; tiempo de eco, 6 ms; ángulo de giro, 458°; grosor de corte, 1,5 mm sin separación; campo de visión, 24 x 18 cm²; matriz de adquisición de imagen, 256 x 192, reformateado a 256 x 256.

Análisis de datos de PET

- 10 Volúmenes de interés (VOI): Los VOI corticales se definieron automáticamente utilizando el software Freesurfer y se combinaron en regiones estándar que incluyen: las cortezas frontal (Fr), temporal (Tp), parietal (Pa) y occipital (Oc), el giro fusiforme (Fs), cingulado (Cg), e ínsula (In). Las regiones subcorticales se definieron con el software FIRST (Patenaude *et al.*, 2011) y se ajustaron manualmente en MRI individuales. Las regiones subcorticales incluyeron putamen (Pu), núcleo caudado (CN), estriado ventral (vS), globo pálido (GP), tálamo (Th), hipocampo (Hp) y amígdala (Am). Los VOI se transfirieron de los espacios de MRI a PET siguiendo los parámetros de registro de MRI a PET dados por SPM5 (Ashburner J, Friston 2003; Maes *et al.*, 1997) para obtener las curvas de tiempo-actividad (TAC) de las regiones. Se emplearon un total de 25 regiones por escaneado para las evaluaciones metodológicas (Parte A), mientras que el cálculo de ocupación se limitó a Pu, CN y vS (Parte B).

- 20 Derivación de las variables de resultado de la PET: las variables de resultado de la PET primarias son el volumen de distribución total V_T y el potencial de unión, BP_{ND} ($= f_{ND} \cdot B_{disponible} / K_D$, donde f_{ND} se refiere a la fracción del compartimento no desplazable, $B_{disponible}$ representa la densidad de receptores 5-HT₆ disponibles (no ocupados), y K_D significa la constante de disociación; Innis *et al.*, 2007).

- 25 Se empleó un conjunto de métodos estándar de entrada en plasma para identificar el método óptimo para la derivación del volumen de distribución regional (V_T) para [¹¹C]LuPET, que incluye un modelo monocompartmental de tejido (OTCM) con tres parámetros (K_1 y k_2 ; véase Koeppe *et al.*, 1991 para las definiciones, y v_0 , volumen vascular de tejido), modelos bicompartimentales de tejido con cinco parámetros (K_1 , k_2 , k_3 , k_4 y v_0 ; véase Innis *et al.*, 2007 para las definiciones), con y sin restricción de la relación K_1 - k_2 (volumen de distribución no desplazable, V_{ND} (Abi-Dargham *et al.*, 1994) para la estimación del cerebelo (TTCM-UC y TTCM-C, respectivamente), y el análisis gráfico de referencia de plasma (PRGA; Logan *et al.*, 1990). En TTCM-UC y TTCM-C, el BP_{ND} se dio como la relación k_3 - k_4 . En el PRGA, se puede obtener BP_{ND} como la relación de V_T de la región al Cb menos uno, si se confirmara que el V_T de Cb no es afectado por la administración del Compuesto I. Las curvas TAC plasmáticas corregidas para el metabolito se obtuvieron aplicando el porcentaje de los perfiles en el tiempo del ligando parental obtenidos por análisis de HPLC a las TAC plasmáticas totales, después de la interpolación en los tiempos de muestreo del plasma utilizando la interpolación cúbica a trozos de Hermite implementada en Matlab (Mathworks, Cambridge, MA, EE. UU.) y utilizada en los métodos de entrada de plasma.

- 35 Además, se aplicaron los métodos de referencia de tejido, a saber, el método de tejido de referencia multilínea con 2 parámetros (MRTM2; Ichise *et al.*, 2002) y el análisis gráfico de tejido de referencia (RTGA; Logan *et al.*, 1996). En RTGA, k_2^R (la constante de velocidad de aclaramiento de Cb de cerebro a sangre) se fijó en 0,076 min⁻¹, un valor medio de k_2 (a través de los escaneados de la línea base) dado por TTCM-UC.

- 40 Para esta sección se utilizaron escaneados de test y retest de la Parte A y escaneados de la línea base de la Parte B.

- 45 Estimación independiente del volumen de distribución del compartimento no desplazable, V_{ND} : Se ha demostrado que un gráfico de dispersión de ΔV_T (post-dosis menos línea base) frente a V_T de línea base, a menudo denominado gráfico de Lassen puede producir un V_{ND} "teóricamente correcto" como una intersección en x de la línea de regresión si el gráfico se alinea linealmente (Lassen *et al.*, 1995; Cunningham *et al.*, 2010). Obsérvese que este método produce un valor de V_{ND} que es común para todas las regiones de los escaneados de la línea base y de post-dosis. El uso del gráfico de Lassen se puede permitir para el cálculo de la ocupación solamente si el gráfico se alinea linealmente. Los valores de V_{ND} dados por el gráfico se utilizan para evaluar si la V_T de Cb se puede usar como una estimación de V_{ND} (es decir, receptores de 5-HT₆ despreciables en Cb) en el PRGA para obtener BP_{ND} y la ocupación del receptor.

- 50 Variabilidad test-retest: Se evaluó la reproducibilidad de V_T y BP_{ND} de [¹¹C]LuPET utilizando la variabilidad de test-retest (TRV) que se obtiene por la siguiente fórmula (por ejemplo, Sudo *et al.*, 2001):

$$TRV = \sum_{i=1}^n \frac{|V_{test} - V_{retest}|}{(V_{test} + V_{retest})/2} / n \quad (1)$$

donde V_{test} y V_{retest} se refieren a estimados de V_T o BP_{ND} de los escaneados de test y retest en la región, respectivamente. Varias publicaciones emplearon una TRV del 10 % como criterio de reproducibilidad aceptable del radioligando (Hirvonen *et al.*, 2009). Por lo tanto, se utilizó este nivel como referencia en este informe. Para esta sección solo se utilizaron los escaneados de test y retest de la Parte A.

- 5 Ocupación y relación de ocupación - farmacocinética: La ocupación de los receptores 5HT₆ (RO en %) por el Compuesto I (Parte B) y por la olanzapina (Parte A) se calculó con la siguiente ecuación:

$$RO = \left(1 - \frac{BP_{ND}^D}{BP_{ND}^B}\right) \times 100 \quad (2)$$

donde los superíndices indican BP_{ND} de la línea base (B) y de post-dosis (D), respectivamente.

- 10 Se ha demostrado que una dosis oral única de 10 mg de olanzapina produce una ocupación del receptor D₂ de dopamina de aproximadamente el 60 % en sujetos varones sanos (Nyberg *et al.*, 1997). Se informa que la afinidad de la olanzapina por el receptor humano *in vitro* para los receptores 5-HT₆ y de dopamina D₂ es comparable con valores de K_i de aproximadamente 10 nM y 30 nM, respectivamente (Kroeze *et al.*, 2003), por lo que se podría esperar una ocupación al menos comparable de 5-HT₆ (= 60 %) en la dosis de 10 mg. Como la olanzapina tiene una afinidad incluso más alta por el receptor 5-HT_{2A}, se debe anticipar cierta contribución de 5-HT_{2A} al desplazamiento total medido después de la dosis de olanzapina. En el cuerpo estriado, la densidad de 5-HT₆ es alta (Woolley *et al.*, 2004) y la densidad de 5-HT_{2A} es baja (Pompeiano *et al.*, 1994), y en consecuencia, la principal contribución será por el desplazamiento de los receptores 5-HT₆ en esta región.

La relación ocupación - farmacocinética (la concentración de Compuesto I en plasma) se ajustó mediante la siguiente ecuación de Hill de primer orden modificada.

$$RO = \frac{PK \cdot O_{\text{max}}}{PK + EC_{50}} \quad (3)$$

donde O_{max} representa la ocupación máxima alcanzable y EC_{50} se refiere a la PK que alcanza el 50 % de O_{max} . Se utilizaron los criterios de información de Akaike (AIC; Akaike 1974; Burnham and Anderson 2004) para examinar la bondad del ajuste para los modelos compartimentales y para el examen de las relaciones de ocupación - PK utilizando la Ecuación 3.

25 Resultados

- Los siguientes resultados de las partes A y B se refieren a las figuras en los dibujos de la Invención. TACs del tejido: En los escaneados de la línea base, las TAC de Pu y CN formaron picos antes de 10 min, y mostraron aumentos continuos después durante un período de 90 min (Figura 1), mientras que las TAC de otras regiones del cerebro alcanzaron picos respectivos antes de 20 min y disminuyeron después de forma monótona. El Cb mostró las acumulaciones más bajas de la radiactividad entre las regiones del cerebro. En los escaneados post-dosis, las formas de las TAC de Pu y CN se acercaron más a las TAC de otras regiones del cerebro de una manera dependiente de la dosis (Panel B). Las TAC de Cb se mantuvieron relativamente similares entre los escaneados de la línea base y de post-dosis.

- Figura 1: Curvas de actividad - tiempo (las TAC) de regiones del cerebro seleccionadas: TACs en plasma: Los metabolitos radioactivos totales en plasma aumentaron en función del tiempo después de la inyección del marcador (Figura 2, Panel A), alcanzando el 69 ± 9 % a los 90 min. El escaneado 3H y el segundo escaneado post-dosis mostraron perfiles en el tiempo de HPLC indistinguibles de los escaneados de la línea base. Las TAC plasmáticas totales y corregidas por el metabolito se muestran en el Panel B. Ambas formaron picos antes de 1 minuto (entrada) y disminuyeron de forma monoexponencial a partir de entonces. Se debe tener en cuenta que en el análisis de datos de la Parte A se utilizaron los perfiles medios en el tiempo de la HPLC de 8 escaneados con HPLC satisfactoria porque la HPLC no fue satisfactoria en los 12 escaneados restantes debido a problemas técnicos. Los perfiles temporales de HPLC de los escaneados individuales se utilizaron en la Parte B.

- Figura 2: Perfil en el tiempo de los metabolitos radioactivos totales de [¹¹C]-LuPET en plasma: Evaluación de métodos para las variables de resultados de PET: AIC soportada por TTCM sobre OTCM (es decir, OTCM mostró valores más altos de AIC que TTCM-UC o TTCM-C en 99,8 % o 99,1 % del total de 434 regiones, respectivamente), lo que da a entender que la transferencia hematoencefálica se puede separar cinéticamente de los procesos de asociación-disociación para [¹¹C]LuPET. Por lo tanto, el OTCM fue rechazado para este radioligando. Sin embargo, TTCM-UC y TTCM-C produjeron valores atípicos (definidos arbitrariamente como: $V_T > 20$ mL/mL, el valor más alto por PRGA y $BP_{ND} > 15,3$ veces mayor que el valor más alto por PRGA) en 8,1 % y 6,2 % de regiones totales para V_T y 7,2 % y 4,4 % para BP_{ND} . Por lo tanto, se sacó la conclusión de que TTCM-UC y TTCM-C no eran suficientemente robustos

para la estimación de V_T y BP_{ND} con [^{11}C]LuPET. Los gráficos de PRGA se aproximaron a las asíntotas al menos a los 40 minutos y mostraron una excelente linealidad (R^2 , coeficientes de determinación $> 0,93$ en todas las regiones). En las dos secciones siguientes se proporcionan más evaluaciones por PRGA.

- 5 Entre los dos métodos de tejido de referencia, RTGA (= x) mostró una correlación más fuerte con PRGA ($y = 0,72 \cdot x + 0,073$; $R^2 = 0,926$) que MRTM2 ($y = 0,73 \cdot x + 0,22$; $R^2 = 0,878$), aunque ambos métodos registraron una subestimación de BP_{ND} en las regiones de BP_{ND} altas.

- 10 Evaluación del gráfico de Lassen y V_T del cerebelo: En comparación con el escaneado de la línea base, el V_T del Cb disminuyó en el escaneado 3H ($t = -3,09$; $p < 0,01$; test t apareado) y en el segundo escaneado post-dosis ($t = -2,56$; $p < 0,05$) como se muestra en la Figura 3, Panel A. No se observaron diferencias estadísticas entre los escaneados 3H y los segundos escaneados post-dosis ($t = 1,06$; $p > 0,3$). El gráfico de Lassen fue lineal ($R^2 > 0,9$) en todos los casos, excepto para un caso (escaneados de la línea de base frente a los de 51 horas post-dosis del sujeto 502 que mostró la menor ocupación; $R^2 = 0,501$) cuyo estimado de V_{ND} fue de $-0,39$ mL/mL. Las estimaciones de V_{ND} se mantuvieron sin cambios entre los escaneados 3H y P2 (Panel B). Sin embargo, la presencia de los valores atípicos eliminó el uso del gráfico de Lassen para el cálculo de la ocupación de este estudio. Cuando se excluyó el valor atípico, el V_T del Cb (= y) se correlacionó con el V_{ND} dado por el gráfico de Lassen ($y = 0,90 \cdot x + 0,08$; $R^2 = 0,945$) pero fue inferior al V_{ND} ($t = -4,36$; $p < 0,001$). Este hallazgo (V_T en Cb a 3H $< V_{ND}$ dado por el gráfico de Lassen) sugirió una ligera sobreestimación de V_{ND} por el gráfico. Junto con las diferencias estadísticamente significativas pero insignificantes (una diferencia media de $0,39$ mL/mL entre los escaneados de la línea base y 3H) en relación con los valores altos de V_T observados en las regiones del estriado ($V_T \sim 10$ mL/mL en las regiones objetivo), las evaluaciones en esta sección justificaron el uso de PRGA para el cálculo de ocupación con [^{11}C]LuPET usando Cb como región de referencia.

- 25 Figura 3: Histogramas (con barras de SEM) del volumen de distribución (V_T) en el cerebelo: Variabilidad test-retest: PRGA mostró valores TRV bajos de V_T (intervalo: $12,7\%$ - $15,6\%$), alcanzando el nivel deseado del 10% en varias regiones, mientras que TTCM-C (intervalo: $13,3\%$ - $45,8\%$) mostró valores de TRV más altos. En BP_{ND} , los valores de TRV de las regiones objetivo (es decir, Pu y CN) estuvieron cerca del 20% por PRGA y ligeramente más altos por TTCM-C (Figura 4, Panel A). Los métodos de referencia de tejido mostraron valores de TRV inaceptables en varias regiones corticales y subcorticales (Panel B). Sin embargo, RTGA mostró valores de TRV en regiones objetivo que estaban muy cerca del nivel del 10% .

- 30 Figura 4: Histogramas (con barras de SEM) de la variabilidad test-retest (TRV): Los resultados de la sección de evaluación del método, incluida la estimación de la variabilidad test-retest, indicaron que el PRGA es el método más apropiado para la derivación de V_T , BP_{ND} y la ocupación con [^{11}C]LuPET entre los métodos de análisis de datos de PET ampliamente reconocidos. Por lo tanto, los resultados obtenidos por PRGA se presentan principalmente de aquí en adelante. Los resultados de RTGA se presentan también cuando es necesario porque la sección del método indicó también que se puede utilizar el RTGA cuando la inserción del catéter arterial y el muestreo de sangre arterial pueden ser factores de confusión, aunque el método pueda sufrir una subestimación del BP_{ND} en las regiones con alto BP_{ND} . Los valores regionales de V_T dados por PRGA y de BP_{ND} por PRGA y RTGA se presentan en la Figura 5 para indicar las distribuciones regionales de V_T y BP_{ND} en sujetos varones sanos en los intervalos de edad estudiados.

- 40 Figura 5: Histogramas (con barras de SEM) del volumen de distribución V_T en regiones seleccionadas del cerebro: Desplazamiento de la unión de [^{11}C]LuPET por la olanzapina: Una dosis de 10 mg de olanzapina desplazó la unión de [^{11}C]LuPET aproximadamente un 80% a través de las regiones (Figura 6), aunque se observaron algunas diferencias regionales. Los hallazgos fueron consistentes con el desplazamiento esperado que se describió en la sección de ocupación y de relación de ocupación - farmacocinética de la sección del método. Se debe tener en cuenta que se obtuvieron resultados relativamente similares cuando se utilizó el escaneado de test o de retest como escaneado de la línea base para el cálculo del desplazamiento.

- 45 Figura 6: Histograma de desplazamiento (%) de [^{11}C]LuPET por una dosis única de 10 mg de olanzapina en regiones seleccionadas del cerebro: Ocupación de los receptores 5-HT₆ por el Compuesto I y relaciones de ocupación - PK: Los valores de ocupación observados para esquemas de dosificación se muestran en la Figura 7. Los gráficos de ocupación - PK de los escaneados 3H se muestran en la Figura 8, junto con los mejores ajustes de los gráficos por la Ecuación 3 (es decir, predicción del modelo). El AIC admitió un ajuste de dos parámetros (es decir, la estimación tanto de O_{max} como de EC_{50}) a favor de un ajuste de un parámetro (que fija O_{max} al 100%) en tres regiones. Las estimaciones de O_{max} , EC_{50} y PK que se predice que ejercerán una ocupación del 80% (80% de RO) se enumeran en la Tabla 2.

- 55 Figura 7: Histogramas (media con barras de SE) de la ocupación de los receptores 5-HT₆ por el Compuesto I mediante el esquema de dosificación para los puntos de tiempo de 3 horas y segundo post-dosis: Los gráficos de dispersión de la ocupación (= y) frente a las concentraciones del Compuesto I en plasma (media de 30 a 90 minutos después de la inyección del trazador) de los escaneados 3H (Figura 8) se ajustaron mediante la Ecuación 3, asumiendo un 100% de O_{max} (Modelo 1; un parámetro, EC_{50} a estimar), y estimando tanto O_{max} como EC_{50} (Modelo

2). El modelo 2 se apoyó sobre el modelo 1 en Pu, CN y vS mediante el criterio de información de Akaike (AIC; cuanto menor sea el valor de AIC, mejor es el ajuste) (Akaike 1974) y F-test que compara las sumas de cuadrados residuales (RSS) de los dos modelos (Tabla 1).

Figura 8: Gráficos de ocupación - PK concentración plasmática de Compuesto I para el putamen, el núcleo caudado y el estriado ventral en el punto de tiempo de 3 horas post-dosis.

Figura 9: Gráficos de ocupación - PK concentración plasmática de Compuesto I para el putamen, el núcleo caudado y el estriado ventral en los segundos puntos de tiempo post-dosis: Los gráficos con todos los puntos de datos agrupados se ajustaron mejor por el Modelo 2 que por el Modelo 1 en Pu y CN, lo que da a entender que O_{max} podría ser identificado únicamente en estas estructuras. Entre los puntos de datos 3H solos (curvas de puntos rojos) y los puntos de datos agrupados (curvas de puntos negros), las curvas previstas por el modelo fueron esencialmente idénticas en Pu y CN. Las extrapolaciones de las curvas de predicción del modelo de los datos P2 solos (curvas de puntos verdes) también estuvieron de acuerdo con las curvas de predicción de los datos agrupados.

Los gráficos con todos los puntos de datos agrupados se ajustaron mejor por el Modelo 2 que por el Modelo 1 en Pu y CN, lo que da a entender que O_{max} podría ser identificado únicamente en estas estructuras. Entre los puntos de datos 3H solos (curvas de puntos rojos) y los puntos de datos agrupados (curvas de puntos negros), las curvas previstas por el modelo fueron esencialmente idénticas en Pu y CN. Las extrapolaciones de las curvas de predicción del modelo de los datos P2 solos (curvas de puntos verdes) también coincidieron con las curvas de predicción de los datos agrupados. Por consiguiente, las estimaciones de O_{max} y EC_{50} fueron consistentes en los conjuntos de datos 3H, P2 y los agrupados. Estos hallazgos no fueron concluyentes para vS, lo que probablemente refleja estimaciones inestables de ocupación en esta región.

El RTGA que no requiere las TAC de plasma dio estimaciones comparables de EC_{50} en Pu, CN y vS, pero estimaciones ligeramente más bajas de O_{max} que el PRGA también enumera los valores de farmacocinética que fueron previstos que generarían un 80 % de ocupación, asumiendo que este nivel de ocupación podría generar un efecto clínico óptimo. Los valores de farmacocinética fueron aproximadamente 120 ng/mL para CN y vS, y aproximadamente 50 ng/mL para Pu por PRGA. El valor de PK fue de aproximadamente 100 ng/mL para CN por RTGA pero no estuvo disponible para Pu y vS debido al hecho de que las estimaciones de O_{max} fueron inferiores al 80 % en estas estructuras.

Figura 10: Gráficos de ocupación - PK (concentración plasmática del Compuesto I) para el putamen (Pu), el núcleo caudado (CN) y el estriado ventral (vS) agrupando dos puntos de tiempo posteriores a la dosis. Las curvas de predicción del modelo (es decir, los mejores ajustes según la Ecuación 3) se muestran como se indica.

Figura 11: Imágenes transaxiales del potencial de unión en el nivel que muestra los escaneados del putamen y del núcleo caudado para la línea base, y 51 horas post-dosis: Imágenes transaxiales del potencial de unión, BP_{ND} al nivel que muestra el putamen (Pu) y el núcleo caudado (CN) para los escaneados de la línea base y de 51 horas ($n = 4$; una dosis única de 30 mg solamente; C) post-dosis. Una imagen BP_{ND} de [^{11}C]MDL100.809 de sujetos jóvenes sanos ($n = 8$) se muestra en el Panel D como referencia. Las imágenes individuales de BP_{ND} se normalizaron espacialmente y se promediaron entre los miembros.

Tabla 1: Evaluación estadística de dos modelos de la ecuación de ocupación - PK (Ecuación 3)

	Putamen (Pu)		Núcleo caudado (CN)		Estriado ventral (vS)	
	AIC Modelo 1 vs. 2	test F	AIC Modelo 1 vs. 2	test F	AIC Modelo 1 vs. 2	test F
3H	86,56 >> 64,69	48,25**	75,26 >> 66,26	13,84**	86,78 ~75,45	18,19**
P2	82,20 > 79,66	4,06	83,87 ~ 85,44	0,38	100,36 ~ 102,13	0,36
3H + P2	166,82 >>146,20	31,17**	160,09 > 156,55	5,67*	193,33 ~ 191,56	3,74

AIC: >> apoya firmemente el Modelo 2; > apoya el Modelo 2; ~ no claramente diferente. Los grados de libertad para el test F fueron (1,14), (1,13) y (1, 29) para 3H, P2 y 3H + P2, respectivamente. Los asteriscos indican niveles de significación: * para $p < 0,05$; ** para $p < 0,001$.

Los mismos gráficos para los escaneados P2 se muestran en la Figura 9. Tanto el AIC como el test F no apoyaron el Modelo 2 sobre el Modelo 1 debido a que no se observaron suficientes números de puntos de datos "cerca de la saturación" para estimar O_{max} exactamente en estos últimos puntos de tiempo.

Tabla 2: Estimados de O_{max} , EC_{50} , y PK que se prevé que ejercen un 80 % de ocupación

	Putamen (Pu)			Núcleo caudado (CN)			Estríado ventral (vS)		
	O _{max} (%)	EC ₅₀ (ng/mL)	80 % RO (ng/mL)	O _{max} (%)	EC ₅₀ (ng/mL)	80 % RO (ng/mL)	O _{max} (%)	EC ₅₀ (ng/mL)	80 % RO (ng/mL)
PRGA									
3H	82,8	4,9	137,8	90,3	6,4	50,1	85,5	4,6	66,5
P2	83,8	5,5	116,7	93,9	8,4	48,0	89,7	16,2	133,5
3H+P2	83,2	5,2	131,7	91,3	7,2	51,1	86,0	9,0	121,0
RTGA									
3H	77,5	5,4	-	85,2	6,7	102,8	78,2	4,6	-
P2	76,6	6,0	-	87,1	9,0	101,5	72,1	4,9	-
3H+P2	77,3	5,8	-	85,7	7,8	108,4	76,5	5,2	-

El signo negativo indica que no se puede obtener un 80 % de ocupación.

Las imágenes de BP_{ND} obtenidas mediante la aplicación voxel por voxel de PRGA se presentan en la Figura 11: para mostrar visualmente los cambios en BP_{ND} después de la administración del Compuesto I.

Exposición

5 La sección de evaluación metodológica de este estudio identificó PRGA como el método óptimo para derivar V_T, BP_{ND} y la ocupación a partir de los datos de PET con radioligando entre los métodos estándar de análisis de datos por PET ampliamente reconocidos. El uso de Cb como la región de referencia se justificó para [¹¹C]LuPET porque los estimados de V_T de Cb eran ligeramente más bajos (pero correlacionados) que las estimaciones V_{ND} obtenidas por los gráficos de Lassen para los casos en que el gráfico era satisfactorio.

10 Se debe tener en cuenta que las estimaciones de TRV de los métodos de entrada de plasma (TTCM y PRGA) no pueden ser tan exactas como deberían ser debido al uso de los perfiles de tiempo medio de HPLC para los escaneados de la Parte A debido a una HPLC no satisfactoria en el 60 % de los escaneados. Sin embargo, cuando se utilizaron los datos de HPLC de los escaneados individuales en la Parte B, la bondad del ajuste (por medio de los valores AIC) de los gráficos de ocupación - PK a las expectativas teóricas (es decir, la Ecuación 3) observada en este estudio fue tan buena como los valores AIC observados en otros estudios de ocupación de receptor según la experiencia, lo que a su vez garantiza que los valores observados de O_{max} y EC₅₀ obtenidos en la Parte B fueron exactos.

20 Las distribuciones de BP_{ND} en el cerebro humano de [¹¹C]LuPET fueron sorprendentemente diferentes de las distribuciones de BP_{ND} de [¹¹C]MDL100.907, un ligando antagonista de alta afinidad para los receptores 5-HT_{2A} (véase la Figura 11): Pu y CN mostraron el BP_{ND} más alto con [¹¹C]LuPET, pero estuvieron relativamente libres del [¹¹C]MDL100.907 mientras que las regiones corticales mostraron un alto BP_{ND} de [¹¹C]MDL100.907 pero un BP_{ND} relativamente bajo con [¹¹C]LuPET.

25 Los gráficos de ocupación - PK coincidieron con la ecuación de Hill de primer orden (Ecuación 3) para los escaneados 3H y P2 por separado o con los escaneados 3H y P2 agrupados. Además, las curvas de predicción de estos tres conjuntos de datos fueron esencialmente idénticas. Estos hallazgos indicaron que las relaciones de ocupación - PK coincidieron entre los escaneados P2 (intervalo de duración post-dosis: 10 - 51 horas; intervalo PK: 0,54 - 204 ng/mL) y los escaneados 3H en los que los valores de PK se encuentran dentro del intervalo PK de los escaneados P2 en 12 de 15 sujetos. Por lo tanto, parece que el Compuesto I estaba asociado con una disociación relativamente rápida de los receptores y el aclaramiento del cerebro (es decir, no hay evidencia de una unión prolongada).

35 En base a los resultados de Pu y CN que mostraron estadísticas convincentes, este estudio predijo que la administración oral del Compuesto I se debería asociar con un O_{max} de aproximadamente 90 % y una EC₅₀ ligeramente superior a 6 ng/mL. Por último, el RTGA, que no requiere el muestreo de sangre arterial, dio valores de EC₅₀ comparables a los del PRGA más invasivo. Se especuló que un bloqueo ligero pero influyente en la región de referencia (Cb) puede explicar la subestimación de O_{max} por RTGA en comparación con PRGA. Por lo tanto, el RTGA puede ser aplicable a los estudios de ocupación de fármaco al estudiar una población de pacientes en los que no es preferible el muestreo de la sangre arterial. Finalmente, se debe mencionar que vS sufrió incertidumbre (es decir, las puntuaciones de AIC indicaron peores ajustes por la Ecuación 3) probablemente debido a volúmenes más pequeños (~ 0,8 mL por lado) que Pu y CN (> 3 mL).

40 La ocupación del receptor 5-HT₆ después de la administración del Compuesto I a 60 mg BID, 30 mg BID y 30 mg QD fue alta; es decir, > 90 %, > 85 % y ~ 80 %, respectivamente, a la C_{max} y solo disminuyó ligeramente 24 horas después de la administración.

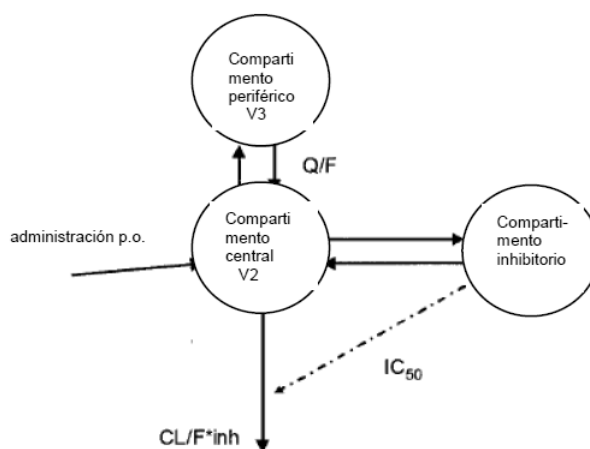
En conclusión, este estudio estimó que la O_{max} era aproximadamente del 90 % y la EC_{50} era de aproximadamente 6,5 ng/mL con una administración oral de una cantidad de Compuesto I. Estos estimados contribuyen a la estimación de la ocupación de los receptores 5-HT₆ que ejerce una eficacia clínica óptima cuando las dosis terapéuticas óptimas y las concentraciones plasmáticas asociadas del Compuesto I están disponibles en sus aplicaciones clínicas.

Ejemplo 3. Modelado de farmacocinética poblacional y simulación de ocupación de 5-HT₆ por modelo PK/PD

Utilizando los datos generados en el estudio de PET del ejemplo 2, un objetivo del ejercicio de simulación y modelado fue estimar las ocupaciones del receptor 5-HT₆ después de múltiples administraciones de Compuesto I en dosis una vez al día en el intervalo de 5,0-60 mg en una población de Alzheimer según la edad.

Modelo de farmacocinética poblacional (popPK)

Se usó el modelo de auto-inhibición y se basa en un artículo de Plock *et al.* (Plock N. *et al.*, Drug Metab Disp 2007, 35: 1816-1823). La estructura del modelo popPK a utilizar se proporciona a continuación.



Los datos de un estudio de Fase I en ancianos y los datos del estudio de la enfermedad de Alzheimer (estudio 12936 A) han demostrado que el aclaramiento del Compuesto I se reduce en los ancianos y, por lo tanto, los sujetos ancianos tienen concentraciones plasmáticas más altas en comparación con los sujetos más jóvenes para la misma dosis. Este efecto de la edad se ha incorporado en el modelo PopPK. En total, el conjunto de datos utilizados en el modelo popPK consistió en 265 pacientes. Las dosis administradas, únicas o múltiples, estuvieron en el intervalo de 9,0-300 mg.

Modelo PK/PD (farmacocinético/farmacodinámico) de ocupación de 5-HT₆

Se incluyeron 16 sujetos sanos en la evaluación de la ocupación de 5-HT₆ después de administraciones múltiples del Compuesto I. Se administró Compuesto I a los sujetos durante al menos tres días a las dosis de 120 (60 BID), 60 (30 BID), 30 mg/día (QD) o 5 mg (QD) con cuatro sujetos en cada cohorte de dosis. En total, se realizaron tres escaneos de PET por sujeto, el primero en la línea base, el segundo alrededor de t_{max} el último día de la administración y el último en el intervalo de 10-51 horas post-dosis el último día de la administración.

La concentración plasmática de Compuesto I frente a la ocupación del receptor 5-HT₆ en la región del núcleo caudado se muestra en la Figura 11. La relación PK/PD se modeló con un modelo de E_{max} en la forma $Occ = E_{max} \cdot C_p / (EC_{50} + C_p)$ donde E_{max} es la ocupación máxima, EC_{50} la concentración plasmática de Compuesto I que da lugar a la mitad de E_{max} y C_p es la concentración plasmática del Compuesto I. En el estudio clínico de PET, las ocupaciones para el segundo escaneo después de la línea base (realizado 10-51 horas después de la última administración de Compuesto I) obviamente no se desviaron más de la curva ajustada de las concentraciones plasmáticas frente a la ocupación del receptor 5-HT₆ que las ocupaciones para el primer escaneo después de la línea base (realizado alrededor de la C_{max}). Esto indica que no existe una histéresis pronunciada ni un tiempo de retardo entre PK y PD, lo que puede ser el caso si, por ejemplo, la velocidad de desactivación del receptor es más larga que la velocidad de eliminación en plasma.

Con el fin de permitir la estimación de la variabilidad entre sujetos en la ocupación, se realizó un modelado de efectos mixtos no lineal donde la variabilidad entre sujetos se modeló como un término exponencial en EC_{50} . Las E_{max} y EC_{50} para la región del núcleo caudado se estimaron en 91 % y 6,5 ng/mL, respectivamente. Las

incertidumbres de los valores estimados fueron bajas, en términos de errores estándar relativos fueron 1,1 % ($E_{\max}$) y 15 % (EC_{50}).

Modelo PK/PD

- 5 Se simuló una población de Alzheimer en términos de edad a la del estudio 12936 A (intervalo 54-90 años y mediana de 75 años). Los perfiles plasmáticos en equilibrio del Compuesto I y las correspondientes ocupaciones del receptor 5-HT₆ se simularon para las dosis 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 60 mg/día y con 1000 pacientes por dosis. Se estimó la ocupación media del receptor 5-HT₆ en la región del núcleo caudado durante un día en estado de equilibrio para cada paciente. Se estimaron la mediana y los percentiles de 5 % y 95 % a partir de los valores individuales para cada grupo de dosis. Por lo tanto, el 90 % de los pacientes estarán en el intervalo entre los percentiles del 5 % y el 95 %.

Tabla 3: Resumen de exposiciones en estado de equilibrio en una población anciana (50-90 años de edad^a) simuladas a partir del modelo popPK

Sexo	Dosis (mg)	C _{max} (ng/mL)			C _{min} (ng/mL)			AUC (h.ng/mL)		
		Media	Mediana	SD	Media	Mediana	SD	Media	Mediana	SD
Hombres	30 QD	173	136	120	100	61	116	3157	2251	2883
	60 QD	370	286	273	225	134	265	6903	4821	6575
	30 TID	529	376	510	433	273	503	11658	7928	12192
Mujeres	30 QD	185	148	123	97	56	117	3176	2247	2947
	60 QD	393	310	280	217	124	268	6938	4812	6701
	30 TID	543	385	528	427	262	519	11753	7920	12609

^amedia 75 años, SD 7 años

Breve análisis

- 15 Utilizando los datos del modelo PK/PD, la Figura 12 muestra la correlación proyectada entre la ocupación del receptor 5-HT₆ y la concentración plasmática del Compuesto I. La exposición (véase el intervalo resaltado sobre el eje de las X) dada por la dosis fija del Compuesto I en el estudio de AD muestra que los sujetos del estudio experimentaron altos niveles de ocupación de receptor para el receptor 5-HT₆.
- 20 La Figura 13 muestra la ocupación simulada del receptor 5-HT₆ en el estado de equilibrio para las dosis de 5,0-60 mg/día. La mediana de las ocupaciones varía de 56 % para 5,0 mg a 92 % para 30 mg. En base a los resultados del estudio de PET, la concentración plasmática del Compuesto I frente a la curva de ocupación de 5-HT₆ parece que está bien descrita.
- 25 Por lo tanto, los datos apoyan el hallazgo de una dosis diaria de una cantidad eficaz entre aproximadamente 30 mg y aproximadamente 60 mg que mejora de este modo el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente y evita las complicaciones vistas en ensayos clínicos previos.

Referencias

- Abi-Dargham A, *et al.* (1994) SPECT measurement of benzodiazepine receptors in human brain with iodine-123-
iomazenil: kinetic and equilibrium paradigms. *J Nucl Med.* 35:228-38.
- Akaike H. (1974) A new look at statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.* AU- 19:716-722.
- 5 • Burnham, K. P., and Anderson, D.R. (2004) Multimodel inference: understanding AIC and BIC in Model Selection. *Sociological Methods and Research.* 33: 261-304
- Cunningham VJ, *et al.* (2010) Measuring drug occupancy in the absence of a reference region: the Lassen plot re-
visited. *J Cereb Blood Flow Metab.* 30:46-50
- 10 • East SZ, *et al.* (2002) 5-HT₆ receptor binding sites in schizophrenia and following antipsychotic drug administration:
autoradiographic studies with [¹²⁵I]SB-258585. *Synapse* 45: 191-199
- Elmenhorst D, *et al.* (2007) Test-retest stability of cerebral A1 adenosine receptor quantification using [¹⁸F]CPFPX
and PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 34:1061-70.
- Frankle WG, *et al.* (2006) Estimation of serotonin transporter parameters with ¹¹C-DASB in healthy humans:
reproducibility and comparison of methods. *J Nucl Med.* 47:815-26.
- 15 • Hilton J, *et al.* (2000) Column-switching HPLC for the analysis of plasma in PET imaging studies. *Nucl Med Biol.*
2000;27:627-30.
- Hirst WD, *et al.* (2003) Differences in the central nervous system distribution and pharmacology of the mouse 5-
hydroxytryptamine-6 receptor compared with rat and human receptors investigated by radioligand binding, site-
directed mutagenesis, and molecular modelling. *Mol Pharmacol* 64: 1295-1308
- 20 • Hirvonen J, *et al.* (2001) Measurement of cortical dopamine d1 receptor binding with ¹¹C[³H]SCH23390]: a test-retest
analysis. *J Cereb Blood Flow Metab.* 21 : 1146-50.
- Hirvonen J, *et al.* (2009) Measurement of central mu-opioid receptor binding *in vivo* with PET and [¹¹C]carfentanil:
a test-retest study in healthy subjects. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 36:275- 86.
- 25 • Ichise M, *et al.* (2002) Strategies to improve neuroreceptor parameter estimation by linear regression analysis. *J*
Cereb Blood Flow Metab. 22: 1271-81.
- Innis RB, *et al.* (2007) Consensus nomenclature for *in vivo* imaging of reversibly binding radioligands. *J Cereb*
Blood Flow Metab. 27: 1533-9.
- Koeppe RA, *et al.* (1991) Compartmental analysis of [¹¹C]flumazenil kinetics for the estimation of ligand transport
rate and receptor distribution using positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab.* 11 :735-44.
- 30 • Kroeze WK, *et al.* (2003) H1-histamine receptor affinity predicts short-term weight gain for typical and atypical
antipsychotic drugs. *Neuropsychopharmacology.* 28:519-26.
- Lassen NA, *et al.* (1995) Benzodiazepine receptor quantification *in vivo* in humans using [¹¹C]flumazenil and PET:
application of the steady-state principle. *J Cereb Blood Flow Metab* 15: 152-65
- 35 • Logan J, *et al.* (1990) Graphical analysis of reversible radioligand binding from time-activity measurements applied
to [N-¹¹C-methyl]-(-)-cocaine PET studies in human subjects. *J Cereb Blood Flow Metab.* 10:740-7.
- Logan J, *et al.* (1996) Distribution volume ratios without blood sampling from graphical analysis of PET data. *J*
Cereb Blood Flow Metab. 16:834-40.
- Lubberink M, *et al.* (2007) Evaluation of tracer kinetic models for quantification of P-glycoprotein function using (R)-
[¹¹C]verapamil and PET. *J Cereb Blood Flow Metab.* 27:424-33.
- 40 • Marner L, *et al.* (2009). Kinetic modeling of [¹¹C]SB207145 binding to 5-HT₄ receptors in the human brain *in vivo*.
J. Nucl. Med. 50:900-908.
- Nyberg S, *et al.* (1997) A PET Study of 5-HT₂, and D2 Dopamine Receptor Occupancy Induced by Olanzapine in
Healthy Subjects. *Neuropsychopharmacology* 16: 1-7.
- 45 • Pompeiano M, *et al.* (1994) Distribution of the serotonin 5-HT₂ receptor family mRNAs: comparison between 5-
HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Brain Res Mol Brain Res.* 23:163-78.

- Rosa-Neto P *et al.* (2005) Stability of alpha-[11C]methyl-L-tryptophan brain trapping in healthy male volunteers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 32:1199-204.
- Soares JC, *et al.* (2001) Reproducibility of *in vivo* brain measures of 5-HT_{2A} receptors with PET and. *Psychiatry Res*. 106:81-93.
- 5 • Sudo Y, *et al.* (2001) Reproducibility of [11C]FLB 457 binding in extrastriatal regions. *Nucl Med Commun*. 22:1215-21.
- Tolboom N, *et al.* (2009) Test-retest variability of quantitative [(11)C]PIB studies in Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 35: 1629-38
- Woolley ML, *et al.* (2004) 5-HT₆ receptors. *Current drug targets - CNS and neurological disorders*. 3:59-79.
- 10 • Yasuno F *et al.* (2007) PET imaging of neurokinin-1 receptors with [(18)F]SPA-RQ in human subjects: assessment of reference tissue models and their test-retest reproducibility. *Synapse*. 61 :242-51.

REIVINDICACIONES

1. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer mediante la mejora o el aumento del efecto de un inhibidor de la acetilcolinesterasa, que comprende administrar una dosis diaria eficaz de dicho compuesto a un
5 paciente que necesite dicho tratamiento, en donde la dosis diaria eficaz administrada al paciente está entre 30 y 60 mg.
2. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer como terapia complementaria al tratamiento con un inhibidor de la acetilcolinesterasa, que comprende administrar una dosis diaria eficaz de N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables a un
10 paciente que necesite dicho tratamiento, en donde la dosis diaria eficaz administrada al paciente está entre aproximadamente 30 y aproximadamente 60 mg.
3. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la sal farmacéuticamente aceptable es el hidrocloreuro.
4. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la dosis se administra como una formulación de liberación inmediata.
15
5. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para tratar la enfermedad de Alzheimer de leve a moderada.
6. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el inhibidor de la acetilcolinesterasa es donepezilo.
20
7. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el inhibidor de la acetilcolinesterasa es rivastigmina.
8. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el inhibidor de la acetilcolinesterasa es galatamina.
9. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la dosis diaria eficaz es 30 mg.
25
10. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la dosis diaria eficaz es 40 mg o menos.
11. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la dosis diaria eficaz es 50 mg o menos.
30
12. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la dosis diaria eficaz es 60 mg o menos.
13. N-(2-(6-fluoro-1H-indol-3-il)etil)-3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)bencilamina para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la dosis diaria eficaz es 60 mg.
35

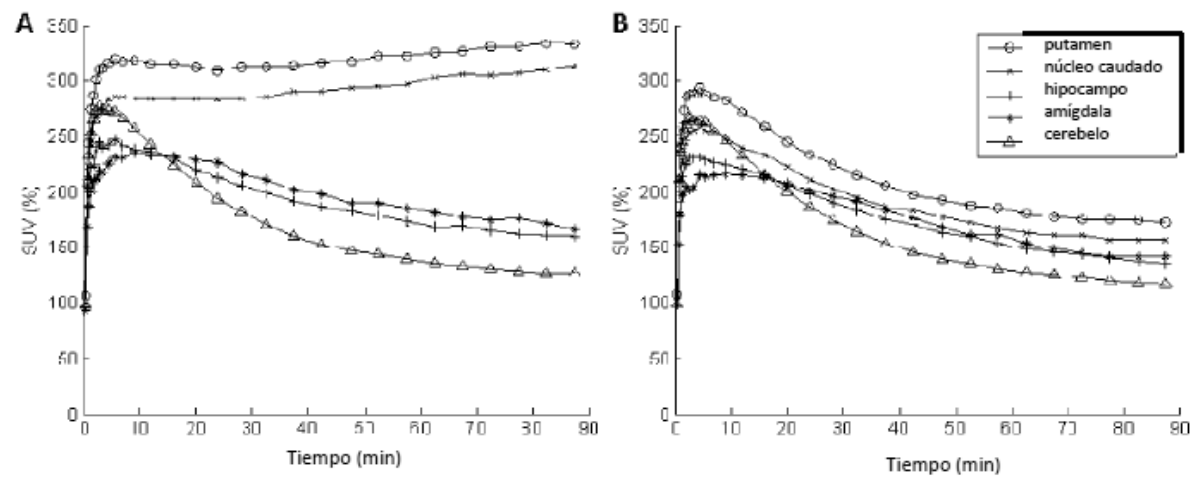


Figura 1

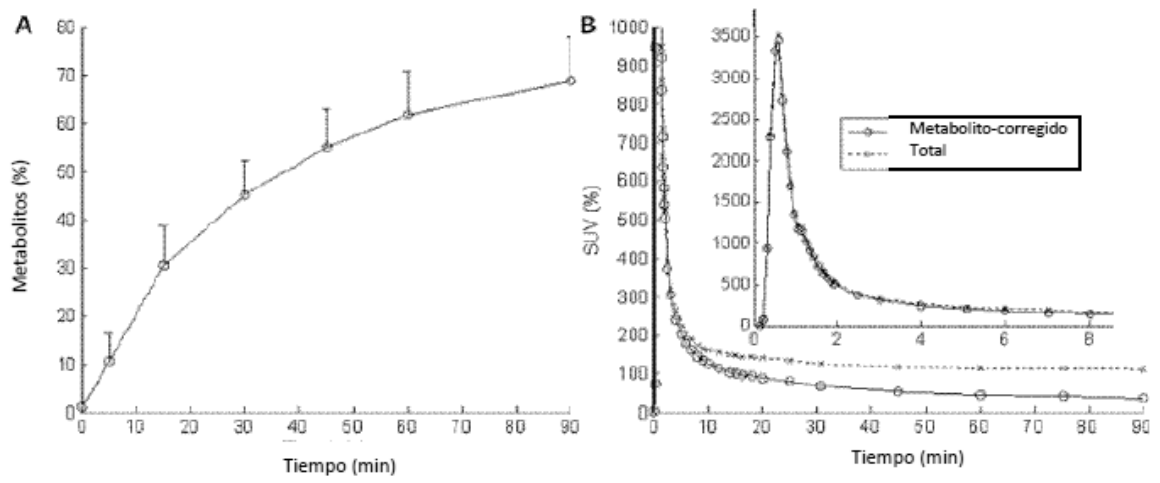


Figura 2

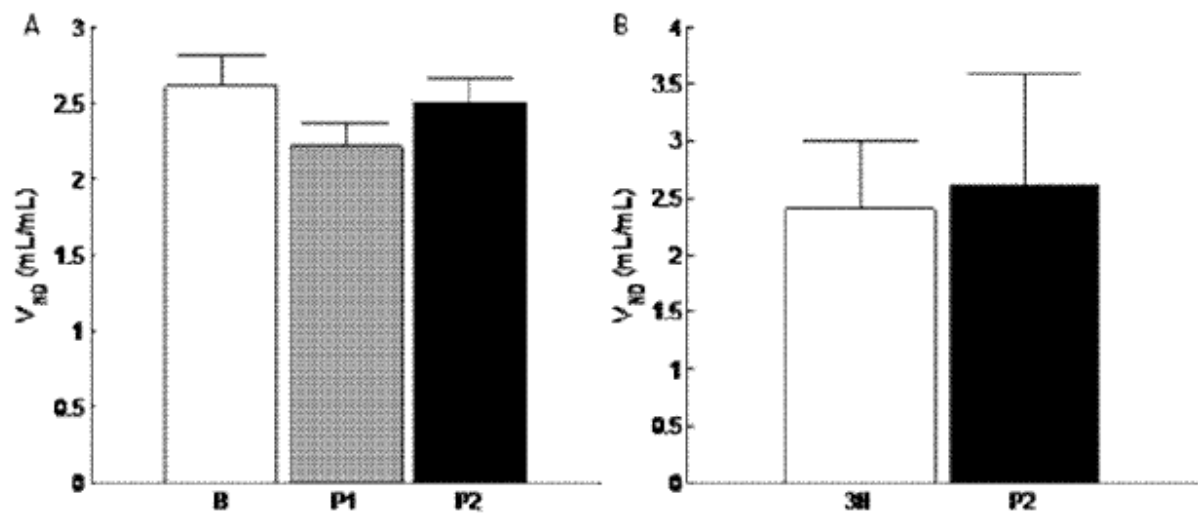


Figura 3

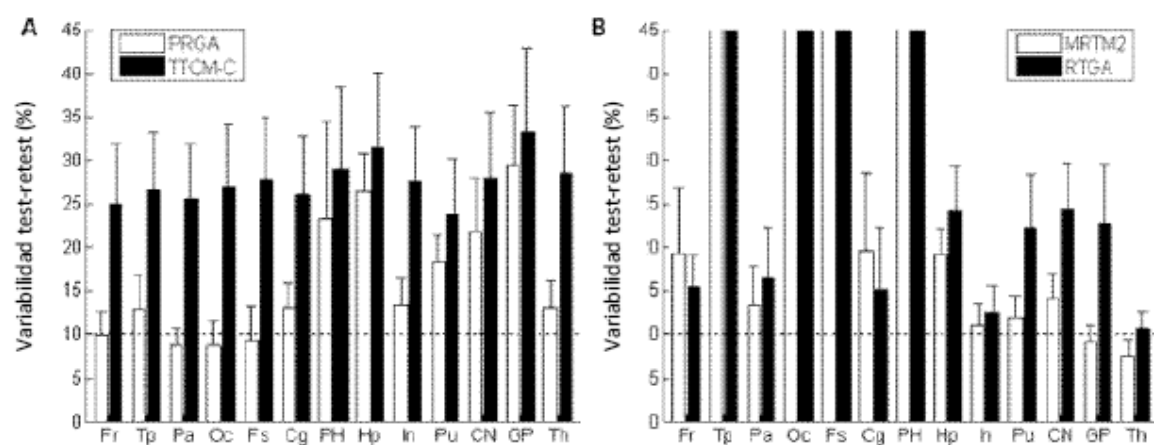


Figura 4

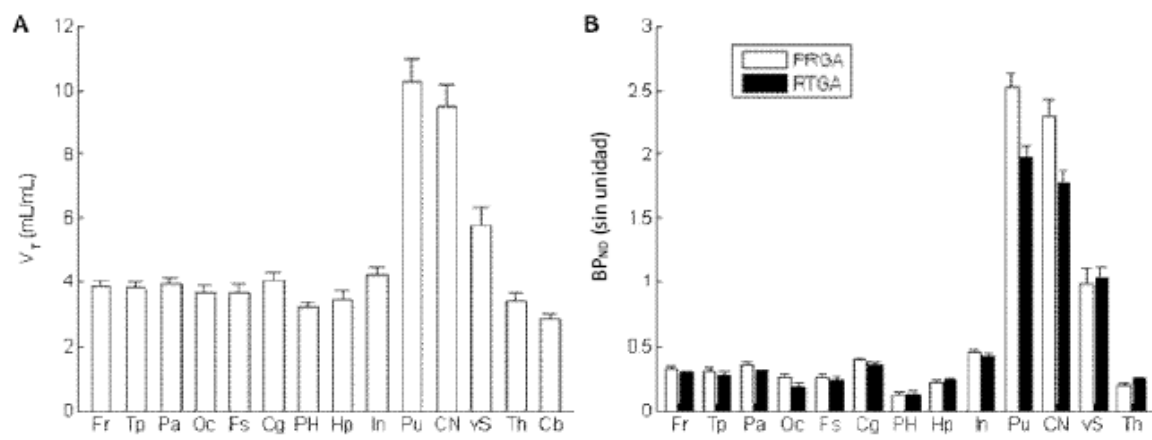


Figura 5

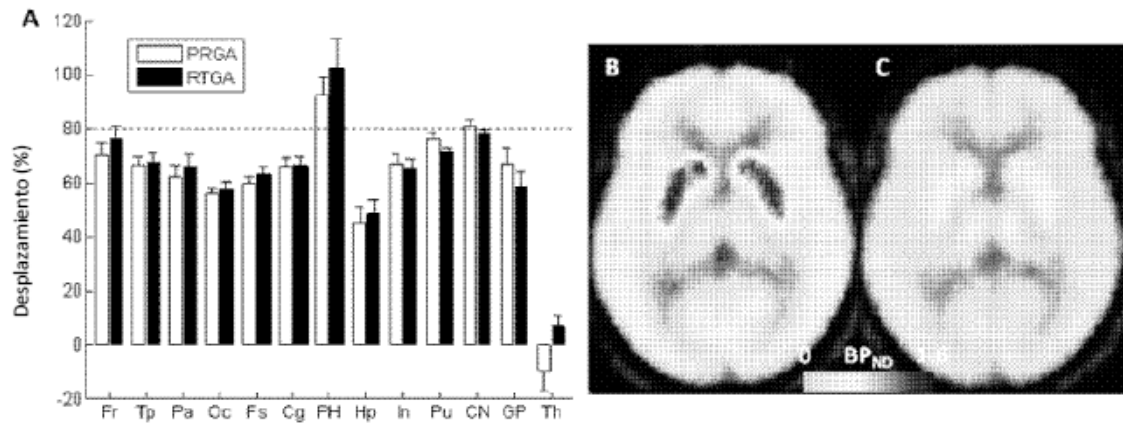


Figura 6

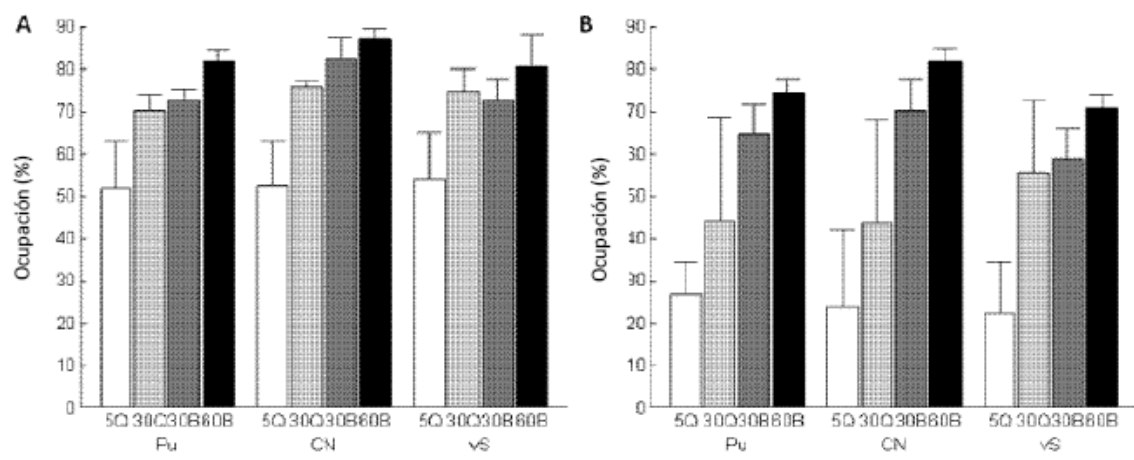


Figura 7

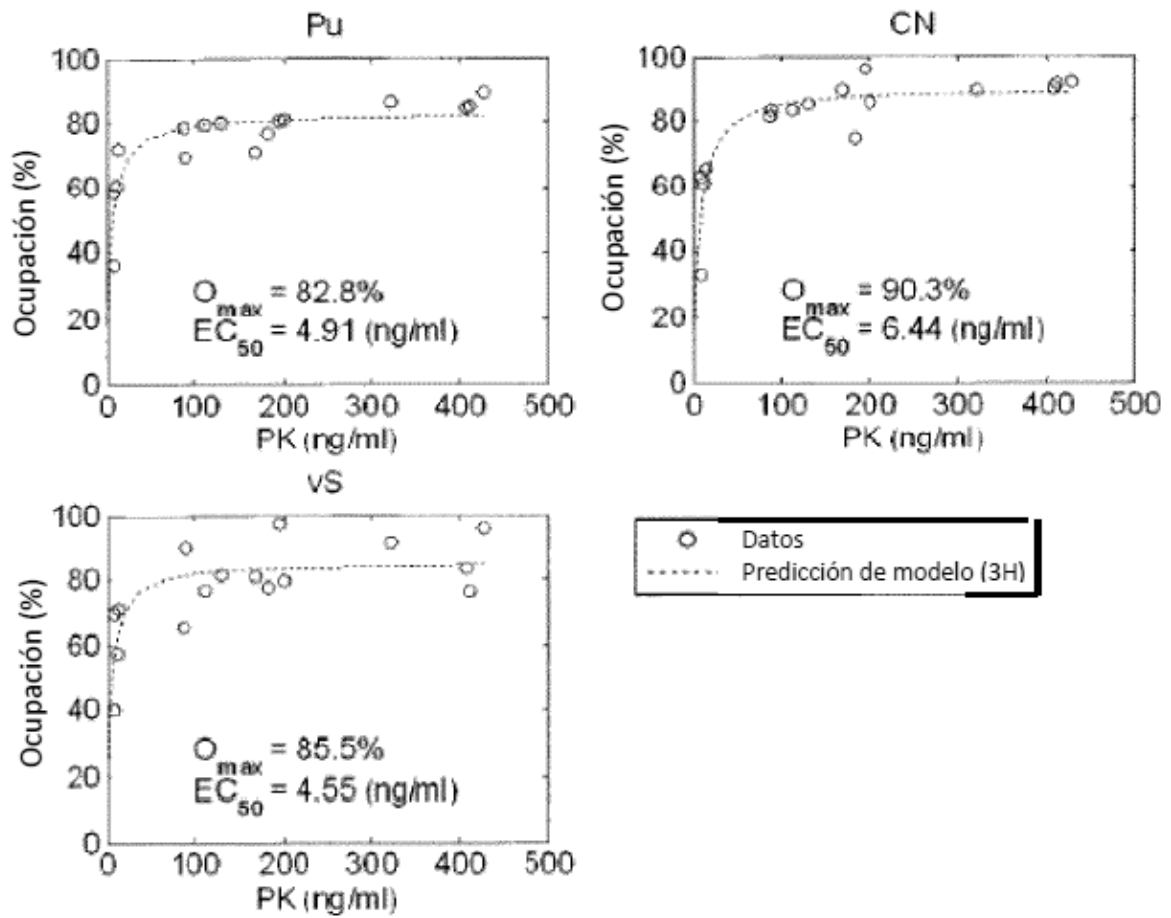


Figura 8

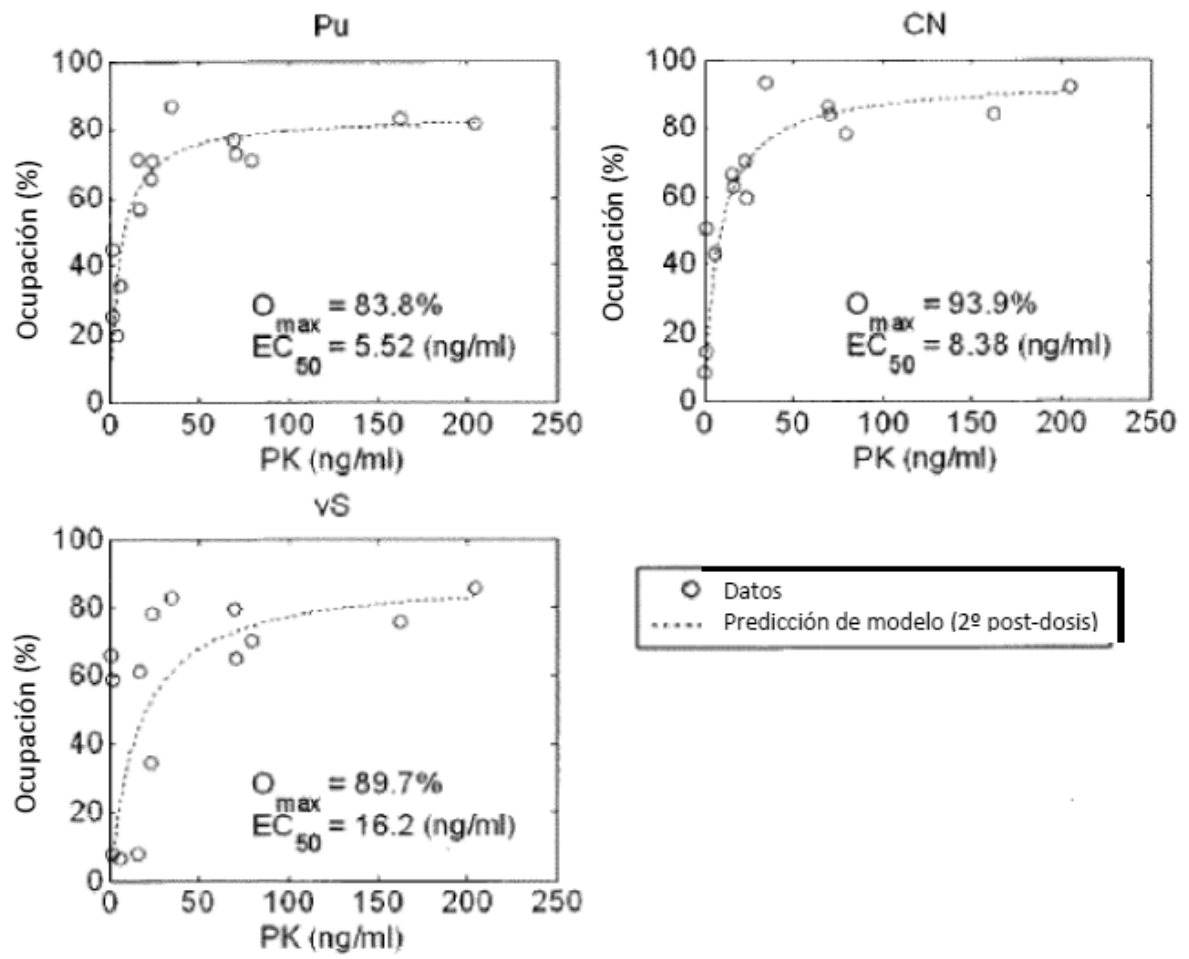


Figura 9

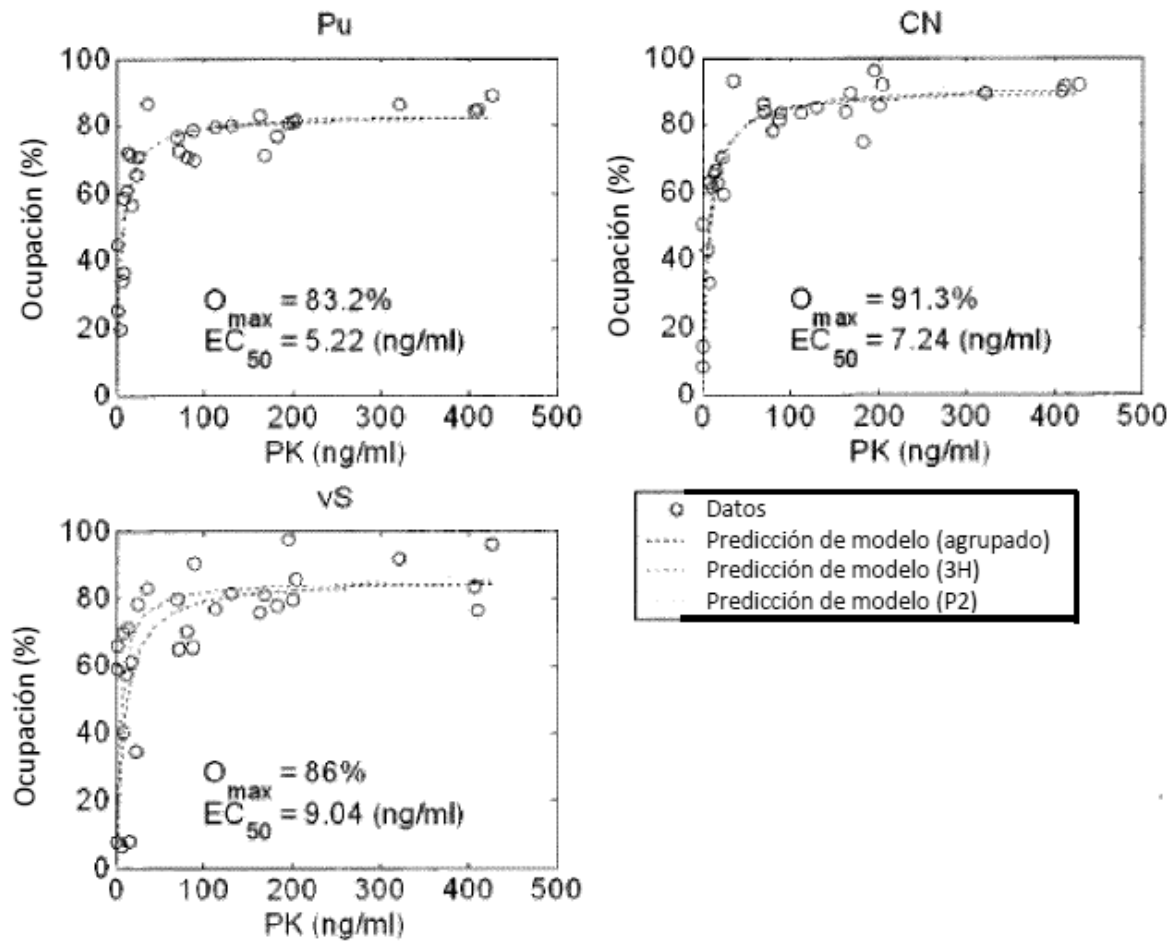


Figura 10

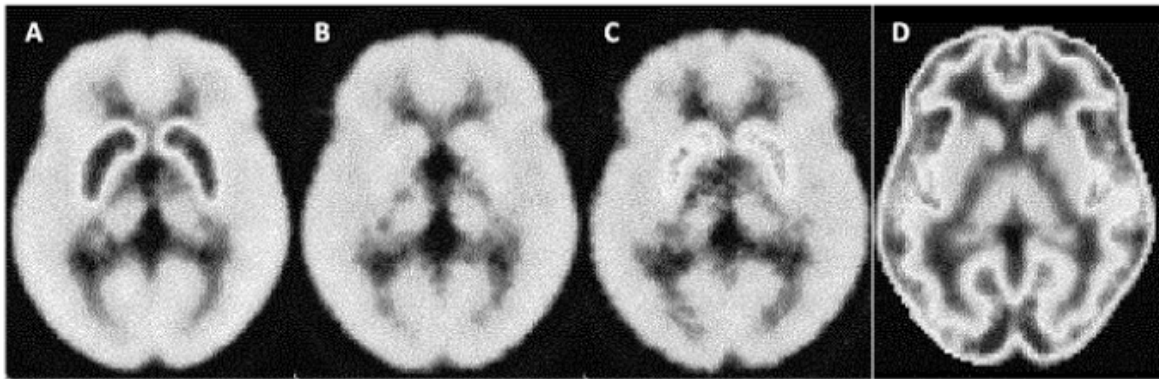


Figura 11

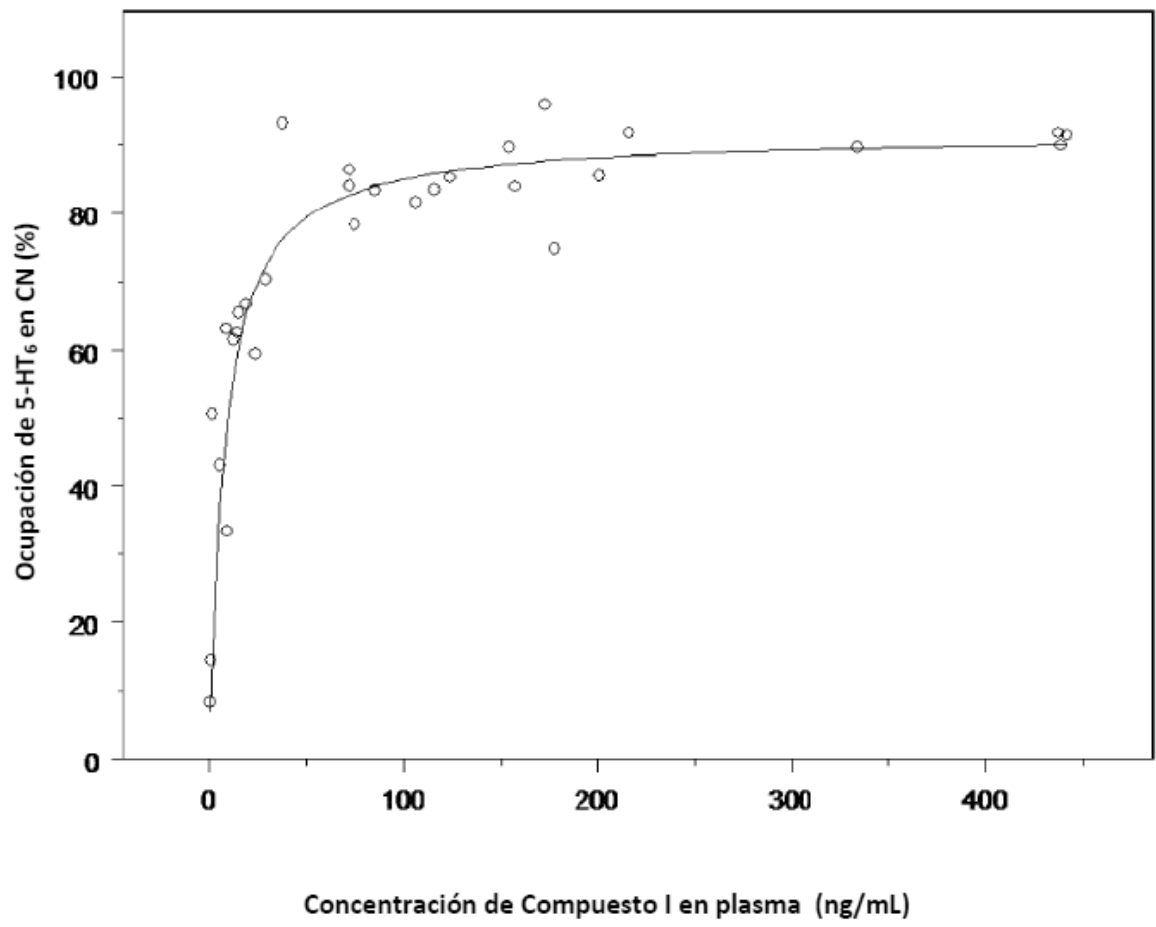
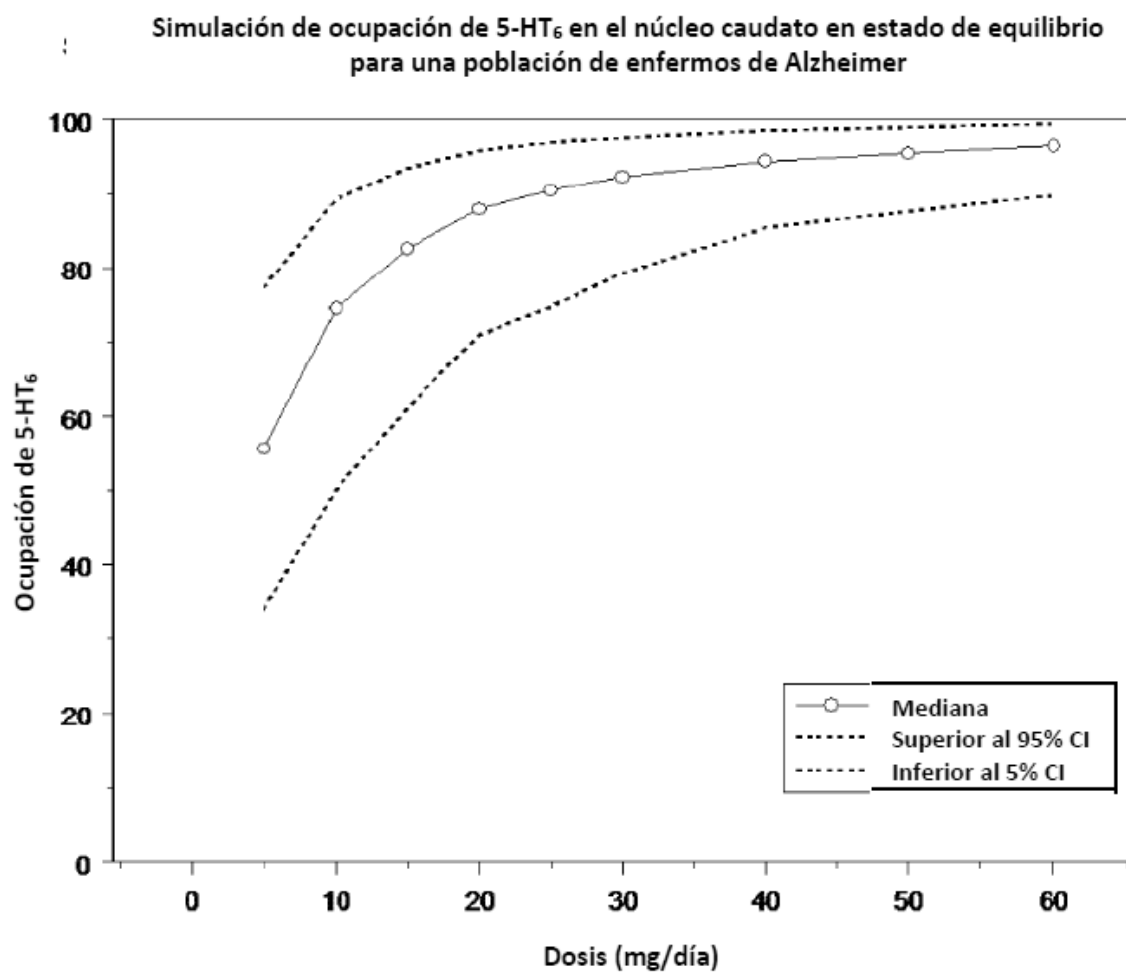


Figura 12

**Figura 13**