

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 749 096**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4162 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)
C07D 471/00 (2006.01)
C07D 498/00 (2006.01)
C07H 5/02 (2006.01)
C07H 17/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.10.2013 PCT/US2013/066069**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.05.2014 WO14066318**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.10.2013 E 13848340 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2911664**

54 Título: **Terapias de combinación para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y trastornos relacionados**

30 Prioridad:
25.10.2012 US 201261718303 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.03.2020

73 Titular/es:
**THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION
(100.0%)
55 Fruit Street
Boston, MA 02114, US**

72 Inventor/es:
ELMALEH, DAVID R.

74 Agente/Representante:
SERRAT VIÑAS, Sara

ES 2 749 096 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

Terapias de combinación para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y trastornos relacionados

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional estadounidense n.º 61/718.303, presentada el 25 de octubre de 2012.

10 Antecedentes

15 La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo progresivo del cerebro, que se caracteriza por el deterioro de la memoria, alteraciones del comportamiento, deterioro de actividades de la vida diaria y pérdida de la función independiente. Se piensa que 18-24 millones de personas en el mundo padecen actualmente EA, dos tercios de los cuales viven en países desarrollados o en desarrollo. Este número se espera que alcance los 34 millones en 2025.

20 La EA es una enfermedad complicada. Puede ser incluso el resultado de más de una enfermedad. Se caracteriza por una acumulación de agregados insolubles de péptido beta amiloide (A β), tales como oligómeros A β . Estos agregados u oligómeros se asocian con la respuesta inflamatoria celular y se piensa que se unen a un receptor de superficie sobre neuronas y cambian la estructura de la sinapsis, interrumpiendo así la comunicación neuronal. Debido a la pequeña cantidad producida por día (22-27 ng/día) y acumulada durante años (aproximadamente 7-10 mg en cerebros de sujetos con EA), esta respuesta inflamatoria diaria es invisible y no está asociada con ningún síntoma principal. Además, se piensa que las anomalías de la proteína tau desempeñan un papel en la cascada de la enfermedad. Se piensa que las proteínas tau hiperfosforiladas se emparejan con otras hebras de tau. Finalmente, forman marañas neurofibrilares dentro de los cuerpos celulares de los nervios. Cuando esto se produce, los microtúbulos se desintegran, colapsando el sistema de transporte de neuronas. Esto puede dar como resultado en primer lugar 25 insuficiencias en la comunicación bioquímica entre neuronas y posteriormente la muerte de las células.

30 Los recientes fracasos de varios fármacos prometedores han estimulado una mayor urgencia para investigar nuevas dianas y sus interconexiones. Esto es, se necesitan nuevas terapias para el Alzheimer. Las publicaciones relevantes incluyen los documentos US 2002/107173 A1 y US 2012/058049 A1, y PRATICO, D, "Alzheimers Disease and Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs: Old Therapeutic Tools with Novel Mechanisms of Action?", CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY - CENTRAL NERVOUS SYSTEM AGENTS, (2005), vol. 5, n.º 2, doi: 35 10.2174/1568015054022434, páginas 111 - 117.

40 El documento US 2002/107173 A1 da a conocer (resumen): "Métodos para el tratamiento y la prevención de trastornos de procesamiento de la APP tales como la enfermedad de Alzheimer y el síndrome de Down, los cuales se basan en la administración de una cantidad eficaz de un inhibidor de la HMG-CoA reductasa a un mamífero. Además, se dan a conocer métodos para el tratamiento y la prevención de trastornos de procesamiento de la APP tales como la enfermedad de Alzheimer y el síndrome de Down, los cuales se basan en la reducción del colesterol celular en un mamífero. Estos métodos reducen la cantidad de péptidos Abeta o disminuyen la formación de péptidos Abeta o aumentan la eliminación de péptidos Abeta en un mamífero que padece la enfermedad de Alzheimer y el síndrome de Down".

45 El documento US 2012/058049 A1 da a conocer (resumen): "Nuevos análogos de cromolina útiles como agentes de imagen para detectar placas ateroscleróticas y para tratar la aterosclerosis y la enfermedad de Alzheimer, y métodos de preparar análogos de cromolina". Los análogos de cromolina tienen la fórmula general (I) o fórmula (II); en la que X es OH, alcoxilo C1-C6, 18F o 19F; Y y Z se seleccionan independientemente de un alquilo C1-C6, alcoxilo CpC6, 50 halógeno, amina no sustituida o sustituida con C1-C6, 18F, 19F o H; y n es 1, 2 ó 3; y en la que para la estructura (I), si n son ambos 1, e Y y Z son ambos H, X no es OH.

Sumario de la invención

55 La presente invención se establece en las reivindicaciones adjuntas. Cualquiera de las realizaciones, los aspectos o los ejemplos de la presente descripción/divulgación que no estén dentro del alcance de dichas reivindicaciones se proporciona solo con fines ilustrativos y no forman parte de la presente invención.

Breve descripción de los dibujos

60 La figura 1 representa diversas funciones de agentes de mastocitos.

La figura 2 representa una combinación de tres fármacos.

65 Figura 3 representa diversos agentes terapéuticos de la invención y sus respectivos mecanismos de acción propuestos en monoterapia.

La figura 4 representa los datos registrados *in vivo* del laberinto de agua del tratamiento con cromolina e ibuprofeno del modelado de ratones transgénicos similar al de la enfermedad de Alzheimer. Los resultados indican que los ratones transgénicos tratados tienen un comportamiento muy similar al grupo de control normal de tipo natural.

5 La figura 5 ilustra las mediciones del nivel de A β solubles en TBS mediante ELISA WAKO. Los experimentos muestran que el nivel de A β en TBS disminuye tras el tratamiento de cromolina de sodio con dependencia de la dosis. La figura 5A muestra que el nivel de A β -40 disminuye tras el tratamiento de cromolina de sodio con dependencia de la dosis. La figura 5B muestra que el nivel de A β -42 disminuye tras el tratamiento de cromolina de sodio con dependencia de la dosis. N=3 ó 5 animales por grupo, promedio \pm DE. El valor de p es significativo usando la prueba de ANOVA de una vía (prueba de Bonferroni). Tanto los A β solubles totales (mostrados como Gdn+) como los A β monoméricos (mostrados como Gdn-) disminuyen después de la adición de cromolina de sodio. La dosis de 2,1 mg/kg de cromolina de sodio fue suficiente para disminuir los A β solubles en TBS.

15 La figura 6 ilustra las mediciones de ELISA de oligómeros IBL del nivel de oligómeros A β solubles en TBS. Los experimentos muestran que el nivel de oligómeros A β no cambió tras el tratamiento con cromolina de sodio. La figura 6A muestra los experimentos ELISA de oligómeros A β IBL (82E1-82E1). Las figuras 6B y 6C muestran la diferencia de los experimentos con Gdn y aquellos sin Gdn usando ELISA WAKO de A β . N=3 ó 5 animales por grupo, promedio \pm DE. El valor de p no es significativo usando la prueba de ANOVA de una vía (prueba de Bonferroni). Ambos ELISA (ELISA de oligómeros IBL y las diferencias entre con y sin Gdn usando ELISA WAKO) mostraron que el nivel de oligómeros no cambia tras el tratamiento con cromolina de sodio.

25 La figura 7 ilustra la biodistribución del compuesto A de cromolina seguida de la inyección intravenosa en ratones. En la figura 7, a 5, 30 ó 60 minutos, que corresponden a las series 1, 2 ó 3, respectivamente en el gráfico, la captación cerebral muestra el 1% de acumulación con algo de o ningún lavado durante el periodo medido.

La figura 8 ilustra una prueba de agregación de A β en ausencia de cromolina. El experimento se sometió a ensayo mediante la cinética de la intensidad fluorescente de tioflavina.

30 La figura 9 ilustra una prueba de agregación de A β después de la adición de cromolina (C0399) o su derivado ¹⁹F (TS734). La adición de cromolina (C0399) y su derivado ¹⁹F (TS734) a una concentración nanomolar muestra la inhibición de la agregación de A β .

35 La figura 10 ilustra la vista lateral de las estructuras relativas y ubicaciones de cromolina y A β después de que la cromolina se una a A β a través de una simulación del modelo de unión.

La figura 11 ilustra la vista desde arriba de las estructuras relativas y ubicaciones de cromolina y A β después de que la cromolina se una a A β a través de una simulación del modelo de unión.

40 Descripción de la invención

40 Agentes terapéuticos

45 Se destacan en el presente documento métodos de tratar o prevenir un estado asociado a la amiloidosis en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos dos compuestos seleccionados del grupo que consiste en un inhibidor de la polimerización del péptido A β , un antiinflamatorio; un compuesto que mejora la función cognitiva, el humor o el comportamiento social, un compuesto asociado con tau o alfa-sinucleína y un compuesto que regula el lavado del péptido amiloide. Los métodos implican combinaciones y dosis de tratamiento multifuncionales.

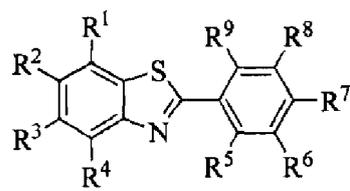
50 Estos tratamientos de combinación pueden retrasar la pérdida de la memoria o la degeneración del cerebro en estadios tempranos de EA. Por ejemplo, un sujeto puede mostrar deterioro cognitivo leve (DCL), o puede tener una estrecha puntuación MMSE (mini-examen del estado mental) de entre aproximadamente 24 y aproximadamente 28.

55 Estos tratamientos de combinación pueden administrarse también a sujetos con EA. En determinadas realizaciones, los sujetos experimentan calidad de vida mejorada.

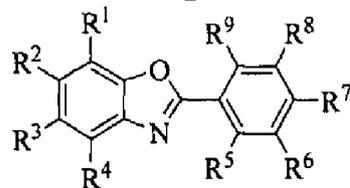
Inhibidores de la polimerización del péptido A β

60 Tioflavina o [N-metil-(¹¹C)]2-(4'-metilaminofenil)-6-hidroxibenzotiazol (PIB) es un inhibidor de la polimerización del péptido A β .

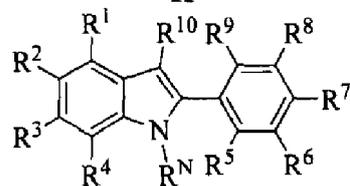
Los inhibidores de la polimerización del péptido A β se representan también por la fórmula I-IV:



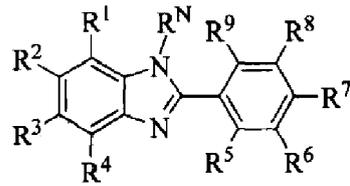
I



II



III



IV

5

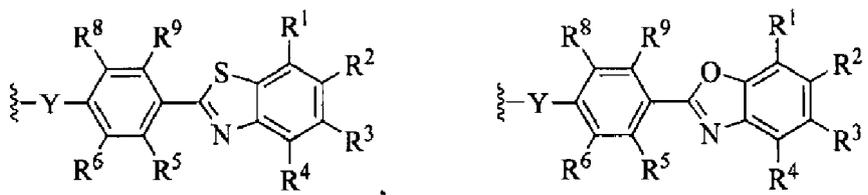
en la que, independientemente para cada caso,

10 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 y R^{10} son hidrógeno, halo, azido, alquilo, haloalquilo, perhaloalquilo, fluoroalquilo, perfluoroalquilo, aralquilo, alquenoilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, hidroxilo, alcoxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, aralquiloxilo, heteroaralquiloxilo, amino, alquilamino, arilamino, acilamino, heteroarilamino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, acilo, carboxilo, oxicarbonilo, aciloxilo, sililo, tioéter, sulfo, sulfonato, sulfonilo, sulfonamido, formilo, ciano, isociano, o -Y-(haloalquilen)-alquilo;

15 R^7 es hidrógeno, halo, azido, alquilo, haloalquilo, perhaloalquilo, fluoroalquilo, perfluoroalquilo, aralquilo, alquenoilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, hidroxilo, alcoxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, aralquiloxilo, heteroaralquiloxilo, amino, alquilamina, arilamino, acilamino, heteroarilamino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, acilo, carboxilo, oxicarbonilo, aciloxilo, sililo, tioéter, sulfo, sulfonato, sulfonilo, sulfonamida, formilo, ciano, isociano, -Y-(haloalquilen)-alquilo, o -Y-(haloalquilen)-R;

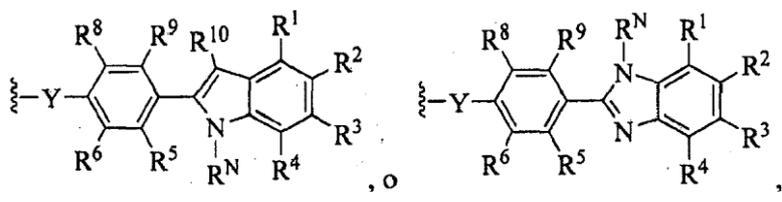
20 R^N es hidrógeno, alquilo menor, o -(haloalquilen)-alquilo;

Y es un enlace, N(R^N), O, o S; y



25

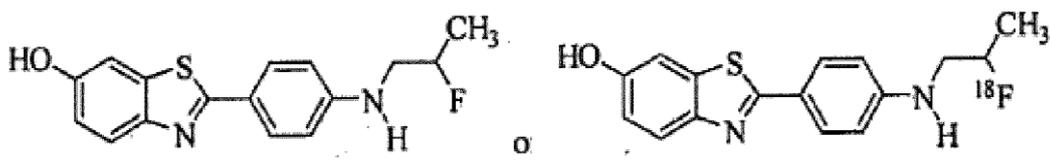
R es



siempre que al menos uno de R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹ o R¹⁰ es -Y-(haloalquilen)-alquilo; o R^N es -(haloalquilen)-alquilo.

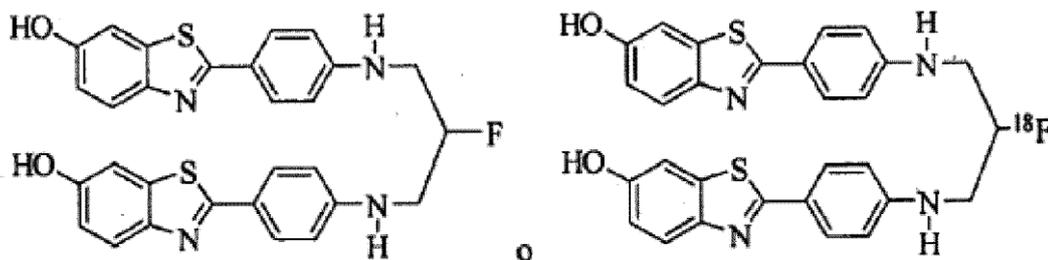
5

En determinadas realizaciones, el inhibidor de la polimerización del péptido Aβ es



10

En determinadas realizaciones, el inhibidor de la polimerización del péptido Aβ es

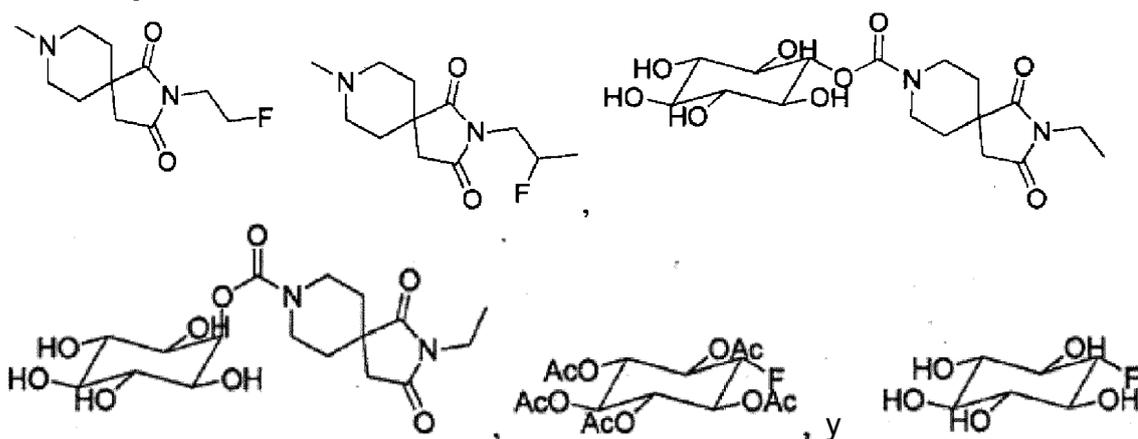


15

Las siguientes patentes estadounidenses y solicitudes de patente también describen inhibidores de la polimerización del péptido Aβ: patente estadounidense n.º 7.858.803; patente estadounidense n.º 6.972.127; 6.946.116; 6.696.039; patente estadounidense n.º 6.168.776; 5.594.142; 4.481.206; 4.405.735; y publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 2011/0060138.

20

Los inhibidores de la polimerización del péptido Aβ adicionales pueden seleccionarse del grupo que consiste en:

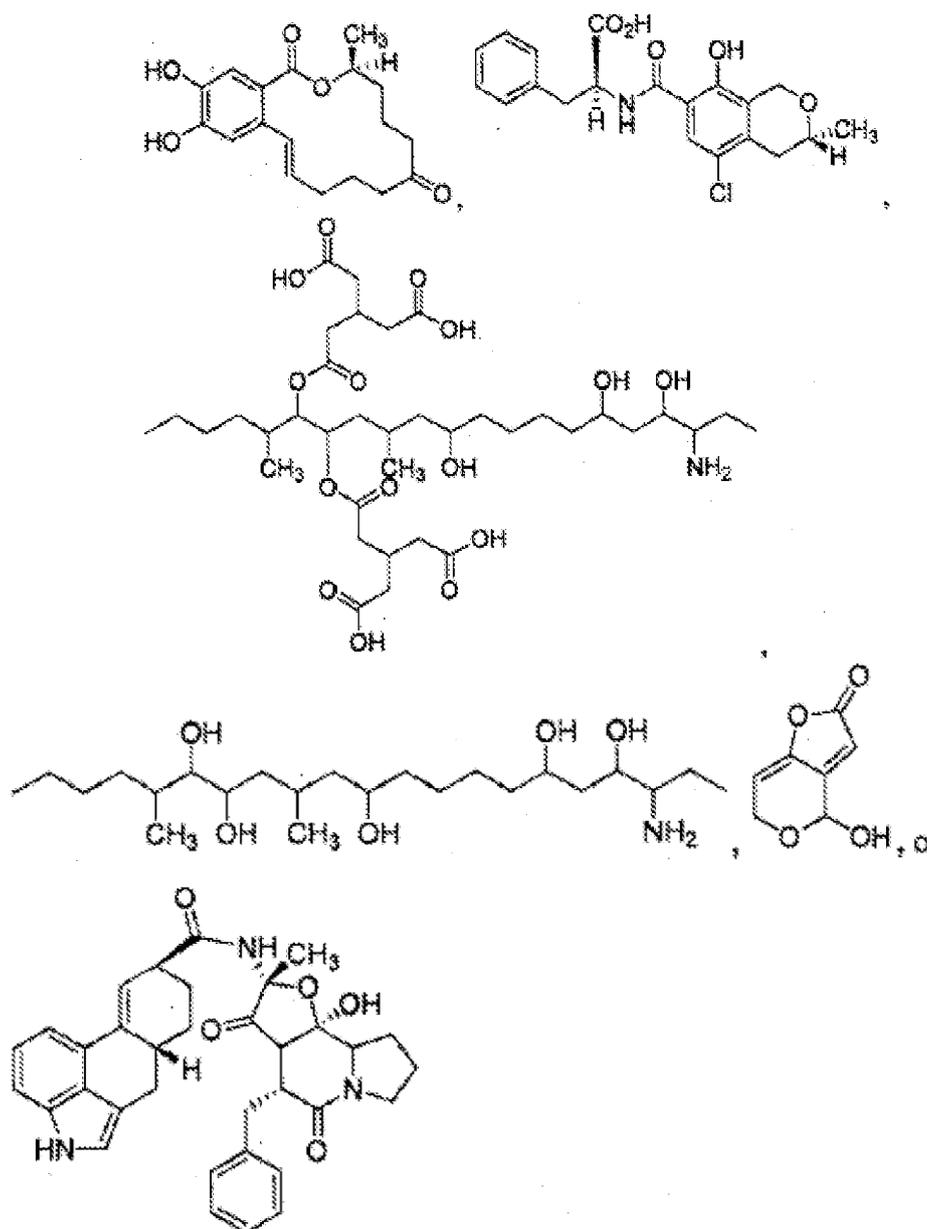


25

Un inhibidor de la gamma secretasa, tal como LY451039 (Semagacestat, Eli Lilly) puede funcionar también como un inhibidor de la polimerización del péptido Aβ. Los ionóforos metálicos, tales como PBT2 (Prana), que seleccionan como diana la agregación inducida por metales de Aβ, puede funcionar también como un inhibidor de la polimerización del péptido Aβ. Las estatinas pueden funcionar también como inhibidores de la polimerización del péptido Aβ.

30

Los endocannabinoides, tales como araquidonoiletanolamina, tetrahidrocannabinol, 2-araquidonoilglicerol, 2-araquidonil gliceril éter, N-araquidonoil-dopamina o virodamina son más ejemplos de inhibidores de la polimerización del péptido Aβ.



- 5 Los compuestos antiinflamatorios pueden ser también un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), tal como ácido acetilsalicílico, diflunisal, salsalato, ibuprofeno, dexibuprofeno, naproxeno, fenoprofeno, ketoprofeno, dexketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprozina, loxoprofeno, indometacina, tolmetina, sulindaco, etodolaco, cetorolaco, diclofenaco, nabumetona, piroxicam, meloxicam, tenoxicam, droxicam, lornoxicam, isoxicam, ácido mefenámico, ácido meclofenámico, ácido flufenámico, ácido tolfenámico, celecoxib, licofelona, hiperforina o escrofularia.

10 Dado que la respuesta inflamatoria a la producción de péptido A β tiene síntomas de efectos secundarios invisibles, el control de la dosificación es importante para evitar la toxicidad de efectos secundarios sistémicos y empeorar el resultado.

15 *Compuestos que mejoran la función cognitiva, el humor y/o el comportamiento social*

Los agentes para mejorar la función cognitiva, el humor y/o el comportamiento social incluyen inhibidores de la colinesterasa, tales como donepezilo, riastigmina o galantamina. Otros ejemplos incluyen antagonistas del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), tales como memantina. Los antioxidantes, tales como vitamina E o selegilina pueden mejorar también la función cognitiva, el humor y/o el comportamiento social del sujeto. La alopregnanolona, un neuroesteroide presente en la sangre, es otro ejemplo de un agente que mejora la función cognitiva, el humor y/o el comportamiento social en un sujeto.

20

Los agentes que inician y/o amplifican la respuesta inmunitaria un sujeto, tales como un inhibidor del factor de necrosis tumoral (TNF), por ejemplo etanercept, o antibióticos, tales como doxiciclina, rifampin o minociclina, también son agentes que mejoran la función cognitiva, el humor o el comportamiento social.

5 Espiro-(N'-metil-piperidil-4')-N-etil-succinimida, tal como se describe en la patente estadounidense n.º 4.481.206, es otro ejemplo de un agente que mejora la función cognitiva, el humor o el comportamiento social. Esta molécula mejora la función cognitiva mediante la activación compensatoria de otros receptores para mejorar la comunicación y la cognición nerviosa. Estos agentes se usan tradicionalmente para mejorar la calidad de vida de sujetos con aparición y progresión de la enfermedad.

10 Latrepirdina parece operar a través de múltiples mecanismos de acción, tanto bloqueando la acción de proteínas beta-amiloide neurotóxicas e inhibiendo los canales de calcio de tipo L, como modulando la acción de los receptores de glutamato AMPA y NMDA, y puede ejercer un efecto neuroprotector al bloquear un diana nueva que implica poros mitocondriales, los cuales se cree que desempeñan un papel en la muerte celular que se asocia con enfermedades neurodegenerativas y el proceso de envejecimiento.

15 R3487 (Roche) es un agonista parcial del receptor nicotínico alfa-7, un receptor altamente especializado encontrado en el sistema nervioso central. En un estudio de segunda fase completado recientemente en pacientes con enfermedad de Alzheimer, R3487 demostró un efecto estadísticamente significativo sobre las múltiples mediciones de la cognición.

Agentes asociados con tau o alfa-sinucleína

25 El cloruro de metiltionino, un inhibidor de la agregación de la proteína tau, es un ejemplo de un agente que se asocia con tau o alfa-sinucleína. Los agentes que pueden estabilizar a tau mientras parte del sistema nervioso tubular puede retrasar la producción de marañas intraneurofibrilares y retrasar la progresión de la enfermedad.

Agentes que regulan el lavado del péptido amiloide

30 Los anticuerpos específicos del péptido A β , aunque no pueden penetrar la BHE normal, pueden provocar cambios de equilibrio entre la cantidad de oligómeros A β en el cerebro, en el líquido céfalloorraquídeo (LCR) y en el sistema vascular. Los anticuerpos pueden unirse y eliminar el péptido A β en el LCR y la sangre, y provocar el equilibrio para favorecer el lavado del péptido A β del cerebro. Aunque muchos de estos anticuerpos muestran una toxicidad significativa y efectos secundarios, la toxicidad se debe en gran parte a las grandes dosis requeridas.

35 Los ejemplos de anticuerpos específicos del péptido A β incluyen: bapineuzumab (Elan/Johnson & Johnson), solanezumab (LY2062430) (Eli Lilly), gammaglobulina IV (Baxter) y PF-4360365 (Pfizer).

40 ACC-001 (Elan/Johnson & Johnson) es una vacuna anti-beta amiloide; estimula el sistema inmunitario para atacar beta-amiloideos.

45 De manera similar, puede usarse el ARNip que selecciona como diana el péptido A β . Algunos estados de EA y lesiones cerebrales provocan una ruptura en la BHE; por tanto el ARNip puede penetrar en el cerebro y amortiguar la producción de péptido A β .

50 CERE-110 (Ceregene Inc.) es una terapia génica del factor de crecimiento nervioso (NGF). El NGF selecciona como diana de manera específica las neuronas colinérgicas del prosencéfalo basal, el cual libera acetilcolina (Ach) en la corteza cerebral y el hipocampo. Los datos preclínicos en ratas demuestran que NGF previno la muerte celular de neuronas colinérgicas y revirtió el decaimiento del comportamiento relacionado con la edad. La terapia génica del NGF se ha sometido a prueba en macacos de la India, y estos estudios demostraron que NGF mejora la atrofia neuronal colinérgica y reconstituye la densidad axonal colinérgica en monos de edad avanzada a los niveles observados en monos jóvenes.

55 Semagacestat (LY450139) es un inhibidor de la gamma-secretasa; la gamma secretasa es responsable de la proteólisis de la proteína precursora amiloidea (APP). La proteólisis de la APP forma A β .

Otro inhibidor de la gamma secretasa es NIC5-15 (Humanetics).

Métodos terapéuticos

60 Las combinaciones de los compuestos descritos anteriormente pueden administrarse a un sujeto en una forma de dosificación única o mediante administraciones separadas de cada agente activo. Los agentes pueden formularse en un único comprimido, una pastilla, una cápsula o una disolución para administración parenteral y similares. Los agentes terapéuticos individuales pueden aislarse de otro(s) agente(s) terapéutico(s) en una forma de dosificación única. Formular las formas de dosificación de tal manera puede ayudar en el mantenimiento de la integridad estructural

de agentes terapéuticos potencialmente reactivos hasta que se administran. Los agentes terapéuticos pueden estar contenidos en regiones segregadas o en comprimidos oblongos distintos o similares, alojados dentro de una cápsula. Los agentes terapéuticos también pueden proporcionarse en capas aisladas en un comprimido.

5 Alternativamente, los agentes terapéuticos pueden administrarse como composiciones separadas, por ejemplo, como comprimidos o disoluciones separados. Uno o más agentes activos pueden administrarse al mismo tiempo que el/los otro(s) agente(s) activo(s), o los agentes activos pueden administrarse de manera intermitente. La duración de tiempo entre administraciones de los agentes terapéuticos puede ajustarse para lograr el efecto terapéutico deseado. En determinados casos, pueden administrarse uno o más agentes terapéuticos solo unos pocos minutos (por ejemplo, 10 aproximadamente 1, 2, 5, 10, 30 ó 60 min) después de la administración del/de los otro(s) agente(s) terapéutico(s). Alternativamente, pueden administrarse uno o más agentes terapéuticos varias horas (por ejemplo, aproximadamente 2, 4, 6, 10, 12, 24 ó 36 h) después de la administración del/de los otro(s) agente(s) terapéutico(s). En determinadas realizaciones, puede ser ventajoso administrar más de una dosificación de uno o más agentes terapéuticos entre administraciones del/de los agente(s) terapéutico(s) restante(s). Por ejemplo, un agente terapéutico puede 15 administrarse a las 2 horas y luego de nuevo a las 10 horas seguido por la administración del/de los otro(s) agente(s) terapéutico(s). Los efectos terapéuticos de cada principio activo deben solaparse durante al menos una parte de la duración, de forma que el efecto terapéutico global de la terapia de combinación sea atribuible en parte a los efectos combinados o sinérgicos de la terapia de combinación.

20 La dosificación de los agentes activos dependerá generalmente de varios factores que incluyen características farmacodinámicas de cada agente de la combinación, el modo y la vía de administración del/de los agente(s) activo(s), la salud del paciente que va a tratarse, el grado de tratamiento deseado, la naturaleza y el tipo de terapia concurrente, si la hubiera, y la frecuencia del tratamiento y la naturaleza del efecto deseado. En general, los intervalos de dosificación de los agentes activos a menudo oscilan entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 250 mg/kg de peso corporal por día. Para un adulto normal que tiene un peso corporal de aproximadamente 70 kg, una dosificación puede oscilar entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal. Sin embargo, puede requerirse alguna variabilidad en este intervalo de dosificación general dependiendo de la edad y del peso del sujeto que va a tratarse, la vía de administración destinada, el agente particular que va a administrarse y similares. Dado que dos o más agentes activos diferentes se usan juntos en una terapia de combinación, debe considerarse la potencia de cada agente y los efectos interactivos logrados al usarlos juntos. De manera importante, la determinación de los intervalos de dosificación y dosificaciones óptimas para un mamífero particular está dentro de la habilidad de un experto habitual en la técnica que tiene el beneficio de la presente divulgación.

Los intervalos de dosificación de agentes pueden ser tan bajos como 5 ng/d. En determinadas realizaciones, se 35 administran aproximadamente 10 ng/día, aproximadamente 15 ng/día, aproximadamente 20 ng/día, aproximadamente 25 ng/día, aproximadamente 30 ng/día, aproximadamente 35 ng/día, aproximadamente 40 ng/día, aproximadamente 45 ng/día, aproximadamente 50 ng/día, aproximadamente 60 ng/día, aproximadamente 70 ng/d, aproximadamente 80 ng/día, aproximadamente 90 ng/día, aproximadamente 100 ng/día, aproximadamente 200 ng/día, aproximadamente 300 ng/día, aproximadamente 400 ng/día, aproximadamente 500 ng/día, aproximadamente 600 ng/día, 40 aproximadamente 700 ng/día, aproximadamente 800 ng/día, aproximadamente 900 ng/día, aproximadamente 1 µg/día, aproximadamente 2 µg/día, aproximadamente 3 µg/día, aproximadamente 4 µg/día, aproximadamente 5 µg/día, aproximadamente 10 µg/día, aproximadamente 15 µg/día, aproximadamente 20 µg/día, aproximadamente 30 µg/día, aproximadamente 40 µg/día, aproximadamente 50 µg/día, aproximadamente 60 µg/día, aproximadamente 70 µg/día, aproximadamente 80 µg/día, aproximadamente 90 µg/día, aproximadamente 100 µg/día, aproximadamente 200 µg/día, aproximadamente 300 µg/día, aproximadamente 400 µg/día, aproximadamente 500 µg/día, aproximadamente 600 µg/día, aproximadamente 700 µg/día, aproximadamente 800 µg/día, aproximadamente 900 µg/día, aproximadamente 1 mg/día, aproximadamente 2 mg/día, aproximadamente 3 mg/día, aproximadamente 4 mg/día, aproximadamente 5 mg/día, aproximadamente 10 mg/día, aproximadamente 15 mg/día, aproximadamente 20 mg/día, aproximadamente 30 mg/día, aproximadamente 40 mg/día, o aproximadamente 50 mg/día de un agente de la invención. 50

En determinadas realizaciones, los agentes de la invención se administran en concentraciones de pM o nM. En determinadas realizaciones, los agentes se administran en concentraciones de aproximadamente 1 pM, de aproximadamente 2 pM, de aproximadamente 3 pM, de aproximadamente 4 pM, de aproximadamente 5 pM, de 55 aproximadamente 6 pM, de aproximadamente 7 pM, de aproximadamente 8 pM, de aproximadamente 9 pM, de aproximadamente 10 pM, de aproximadamente 20 pM, de aproximadamente 30 pM, de aproximadamente 40 pM, de aproximadamente 50 pM, de aproximadamente 60 pM, de aproximadamente 70 pM, de aproximadamente 80 pM, de aproximadamente 90 pM, de aproximadamente 100 pM, de aproximadamente 200 pM, de aproximadamente 300 pM, de aproximadamente 400 pM, de aproximadamente 500 pM, de aproximadamente 600 pM, de aproximadamente 700 pM, de aproximadamente 800 pM, de aproximadamente 900 pM, de aproximadamente 1 nM, de aproximadamente 2 nM, de aproximadamente 3 nM, de aproximadamente 4 nM, de aproximadamente 5 nM, de aproximadamente 6 nM, de aproximadamente 7 nM, de aproximadamente 8 nM, de aproximadamente 9 nM, de aproximadamente 10 nM, de aproximadamente 20 nM, de aproximadamente 30 nM, de aproximadamente 40 nM, de aproximadamente 50 nM, de aproximadamente 60 nM, de aproximadamente 70 nM, de aproximadamente 80 nM, de aproximadamente 90 nM, de 65 aproximadamente 100 nM, de aproximadamente 200 nM, de aproximadamente 300 nM, de aproximadamente 400 nM,

de aproximadamente 500 nM, de aproximadamente 600 nM, de aproximadamente 700 nM, de aproximadamente 800 nM, o de aproximadamente 900 nM.

En determinadas realizaciones, el tamaño del agente activo es importante. En determinadas realizaciones, el agente activo es de menos de aproximadamente 3 μm , de menos de aproximadamente 2 μm , de menos de aproximadamente 1 μm de diámetro. En determinadas realizaciones, el agente activo es desde aproximadamente 0,1 μm hasta aproximadamente 3,0 μm de diámetro. En determinadas realizaciones, el agente activo es desde aproximadamente 0,5 μm hasta aproximadamente 1,5 μm de diámetro. En determinadas realizaciones, el agente activo es aproximadamente 0,2 μm , aproximadamente 0,3 μm , aproximadamente 0,4 μm , aproximadamente 0,5 μm , aproximadamente 0,6 μm , aproximadamente 0,7 μm , aproximadamente 0,8 μm , aproximadamente 0,9 μm , aproximadamente 1,0 μm , aproximadamente 1,1 μm , aproximadamente 1,2 μm , aproximadamente 1,3 μm , aproximadamente 1,4 μm , o aproximadamente 1,5 μm de diámetro.

Puede ser ventajoso para la combinación farmacéutica estar compuesta por una cantidad relativamente grande del primer componente en comparación con el segundo componente. En determinados casos, la razón del primer agente activo con respecto al segundo agente activo es de aproximadamente 200:1, 190:1, 180:1, 170:1, 160:1, 150:1, 140:1, 130:1, 120:1, 110:1, 100:1, 90:1, 80:1, 70:1, 60:1, 50:1, 40:1, 30:1, 20:1, 15:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1 ó 5:1. Es aún más preferible tener una distribución más igual de los agentes farmacéuticos. En determinados casos, la razón del primer agente activo con respecto al segundo agente activo es de aproximadamente 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3 ó 1:4. También puede ser ventajoso para la combinación farmacéutica tener una cantidad relativamente grande del segundo componente en comparación con el primer componente. En determinados casos, la razón del segundo agente activo con respecto al primer agente activo es de aproximadamente 30:1, 20:1, 15:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1 ó 5:1. En determinados casos, la razón del segundo agente activo con respecto al primer agente activo es de aproximadamente 100:1, 90:1, 80:1, 70:1, 60:1, 50:1 ó 40:1. En determinados casos, la razón del segundo agente activo con respecto al primer agente activo es de aproximadamente 200:1, 190:1, 180:1, 170:1, 160:1, 150:1, 140:1, 130:1, 120:1 ó 110:1. Puede administrarse una composición que comprende cualquiera de las combinaciones identificadas anteriormente del primer agente terapéutico y del segundo agente terapéutico en dosis divididas de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más veces por día o en una forma que proporcionará una tasa de liberación efectiva para alcanzar los resultados deseados. La forma de dosificación puede contener tanto el primer como el segundo agente activo. La forma de dosificación puede administrarse una vez por día si contiene tanto el primero como el segundo agente activo.

Por ejemplo, una formulación destinada a la administración oral para seres humanos puede contener desde aproximadamente 0,1 mg hasta aproximadamente 5 g del primer agente terapéutico y desde aproximadamente 0,1 mg hasta aproximadamente 5 g del segundo agente terapéutico, ambos de los cuales están compuestos con una cantidad conveniente y apropiada de material vehículo que oscila entre aproximadamente el 5 y aproximadamente el 95 por ciento de la composición total. Las dosificaciones unitarias contendrán generalmente entre aproximadamente 0,5 mg y aproximadamente 1500 mg del primer agente terapéutico y de 0,5 mg hasta aproximadamente 1500 mg del segundo agente terapéutico. La dosificación puede ser de aproximadamente 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 800 mg ó 1000 mg, etc., hasta aproximadamente 1500 mg del primer agente terapéutico. La dosificación puede ser de aproximadamente 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 800 mg ó 1 000 mg, etc., hasta aproximadamente 1500 mg del segundo agente terapéutico.

Definiciones

Tal como se usan en el presente documento, los siguientes términos y expresiones deben tener los significados proporcionados a continuación.

Los artículos indefinidos “un” y “una”, tal como se usan en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, a menos que se indique claramente lo contrario, deben entenderse que significan “al menos uno/a”.

Un “estado asociado a la amiloidosis” es una enfermedad que se asocia con la deposición de amiloides y puede incluir, pero no limitarse a, la enfermedad de Alzheimer, mieloma idiopático, polineuropatía amiloide, miocardiopatía amiloide, amiloidosis sistémica, polineuropatía amiloide, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis, síndrome de Down, tembladera de las ovejas, carcinoma medular de tiroides, amiloide auricular aislado, amiloide β_2 -microglobulina en pacientes de diálisis, miositis por cuerpos de inclusión, depósitos de β_2 -amiloide en la enfermedad de desgaste muscular, islotes de Langerhans, diabetes tipo 1, insulinoma, diabetes mellitus tipo 2, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis (Dutch), amiloide A (reactivo), amiloidosis secundaria, fiebre mediterránea familiar, nefropatía amiloide familiar con urticaria y sordera (síndrome de Muckle-Wells), cadena L lambda amiloide o cadena L kappa amiloide (mieloma idiopático o asociada a macroglobulinemia), A beta 2M (hemodiálisis crónica), ATTR (polineuropatía amiloide familiar (portuguesa, japonesa, sueca)), miocardiopatía amiloide familiar (danesa), amiloide cardíaco aislado, amiloidosis senil sistémica, AIAPP o insulinoma de amilina, factor natriurético auricular (amiloide auricular aislado), procalcitonina (carcinoma medular de tiroides), gelsolina (amiloidosis familiar (finlandesa)), cistatina C (hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis (islandesa)), AApo-A-1 (polineuropatía amiloidótica familiar-tipo Iowa), AApo-A-II (senescencia acelerada en ratones), lesiones en la cabeza (lesión cerebral traumática), demencia, amiloide asociado a fibrinógeno; y Asor o Pr P-27 (tembladera, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, síndrome de Gerstmann-Sträussler-

Scheinker, encefalitis espongiiforme bovina), o en casos de personas que son homocigotos para el alelo de la apolipoproteína E4, y el estado asociado con homocigosidad para el alelo de la apolipoproteína E4 o la enfermedad de Huntington.

- 5 “Amiloidosis” es un estado caracterizado por la acumulación de diversas proteínas fibrilares insolubles en los tejidos de un paciente. Un depósito amiloide se forma por la agregación de proteínas de amiloides, seguida por la posterior combinación de agregados y/o proteínas de amiloides.

10 Existen muchas formas de amiloidosis, y la enfermedad puede clasificarse en cuatro grupos: amiloidosis primaria, amiloidosis secundaria, amiloidosis hereditaria y amiloidosis asociada con envejecimiento normal. La amiloidosis primaria (amiloidosis de cadena ligera) se produce con anomalías de células en plasma, y algunas personas con amiloidosis primaria también tienen mieloma múltiple (cáncer de las células en plasma). Los sitios típicos de crecimiento de amiloides en amiloidosis primaria son el corazón, los pulmones, la piel, la lengua, la glándula tiroidea, los intestinos, el hígado, los riñones y los vasos sanguíneos. La amiloidosis secundaria puede desarrollarse en respuesta a diversas enfermedades que provocan la infección o inflamación persistente, tal como tuberculosis, artritis reumatoide y fiebre mediterránea familiar. Los sitios típicos de crecimiento de amiloides en amiloidosis secundaria son el bazo, el hígado, los riñones, las glándulas suprarrenales y los ganglios linfáticos. La amiloidosis hereditaria se ha notado en algunas familias, particularmente aquellas de Portugal, Suecia y Japón. El defecto que produce amiloides se produce debido a mutaciones en proteínas específicas en la sangre. Los sitios típicos de crecimiento de amiloides en amiloidosis hereditaria son los nervios, el corazón, los vasos sanguíneos y los riñones.

25 La expresión “y/o”, tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, debe entenderse que significa “cualquiera o ambos” de los elementos así unidos, es decir, elementos que están presentes de manera conjunta en algunos casos y presentes de manera separada en otros casos. Los múltiples elementos enumerados con “y/o” deben interpretarse de la misma manera, es decir, “uno o más” de los elementos así unidos. Otros elementos pueden estar opcionalmente presentes en lugar de los elementos específicamente identificados por la cláusula “y/o”, ya sean relacionados o no relacionados con aquellos elementos específicamente identificados. Por tanto, como un ejemplo no limitativo, una referencia a “A y/o B”, cuando se usa junto con un lenguaje abierto tal como “que comprende”, puede referirse, en una realización, a solo A (incluyendo opcionalmente elementos distintos de B); en otra realización, a solo B (incluyendo opcionalmente elementos distintos de A); en aún otra realización, a ambos A y B (incluyendo opcionalmente otros elementos); etc.

35 Tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, “o” debe entenderse que tiene el mismo significado que “y/o” tal como se define anteriormente. Por ejemplo, cuando se separan elementos en una lista, “o” o “y/o” deben interpretarse como que son inclusivos, es decir, la inclusión de al menos uno, pero también incluir más de uno, de un número o lista de elementos, y, opcionalmente, elementos no enumerados adicionales. Solo los términos claramente indicados en sentido contrario, tales como “solo uno de” o “exactamente uno de”, o, cuando se usan en las reivindicaciones, “que consiste en”, se referirán a la inclusión de exactamente un elemento de un número o lista de elementos. En general, el término “o” tal como se usa en el presente documento debe interpretarse solo como indicativo de alternativas exclusivas (es decir, “uno o el otro pero no ambos”) cuando se precede por términos de exclusividad, tales como “cualquiera”, “uno de”, “solo uno de”, o “exactamente uno de”. “Que consiste esencialmente en”, cuando se usa en las reivindicaciones, debe tener su significado ordinario tal como se usa en el campo del derecho de patentes.

45 Tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, la expresión “al menos uno”, en referencia a una lista de uno o más elementos, debe entenderse que significa al menos un elemento seleccionado de uno cualquiera o más de los elementos en la lista de elementos, pero no necesariamente que incluya al menos uno de cada elemento específicamente enumerado dentro de la lista de elementos y no excluya cualquier combinación de elementos en la lista de elementos. Esta definición también permite que los elementos puedan estar opcionalmente presentes además de los elementos específicamente identificados dentro de la lista de elementos a los que se refiere la expresión “al menos uno”, ya sean relacionados o no relacionados con aquellos elementos específicamente identificados. Por tanto, como ejemplo no limitativo, “al menos uno de A y B” (o, de manera equivalente, “al menos uno de A o B”, o, de manera equivalente “al menos uno de A y/o B”) puede referirse, en una realización, a al menos uno, incluyendo opcionalmente más de uno, A, con B no presente (e incluyendo opcionalmente elementos distintos de B); en otra realización, a al menos uno, incluyendo opcionalmente más de uno, B, con A no presente (e incluyendo opcionalmente elementos distintos de A); en aún otra realización, a al menos uno, incluyendo opcionalmente más de uno, A, y al menos uno, incluyendo opcionalmente más de uno, B (e incluyendo opcionalmente otros elementos); etc.

60 Debe entenderse también que, a menos que se indique lo contrario, en cualquier método reivindicado en el presente documento que incluye más de una etapa o actuación, el orden de las etapas o actuaciones del método no se limita necesariamente al orden en el que se enumeran las etapas o actuaciones del método.

65 Los términos “aumento” o “aumentar” se refieren a combinaciones en las que uno de los compuestos aumenta o mejora los efectos terapéuticos de otro compuesto o compuestos administrados a un paciente. En algunos casos, el

aumento puede dar como resultado en la mejora de la eficacia, tolerabilidad o seguridad, o cualquier combinación de las mismas, de una terapia particular.

5 En las reivindicaciones, así como en la memoria descriptiva anterior, todos los términos transitorios tales como “que comprende”, “que incluye”, “que lleva”, “que tiene”, “que contiene”, “que implica”, “que mantiene”, “compuesto de” y similares, deben entenderse como abiertos, es decir, significar que incluyen pero no se limitan a. Solo los términos transitorios “consiste en” y “consiste esencialmente en” deben ser términos transitorios cerrados o semicerrados, respectivamente, tal como se establece en el manual de procedimientos de examen de patentes de la Oficina de Patentes de los Estados Unidos, sección 2111.03.

10 La definición de cada expresión, por ejemplo, alquilo, m, n y similares, cuando se produce más de una vez en cualquier estructura, pretende ser independiente de su definición en otra parte en la misma estructura.

15 En el primer número de cada volumen de la revista Journal of Organic Chemistry, aparece una lista completa de las abreviaturas utilizadas por los químicos orgánicos de habilidad ordinaria en la técnica; esta lista se presenta habitualmente en una tabla titulada lista convencional de abreviaturas.

Los términos “hidroxi” e “hidroxilo” se refieren al grupo -OH.

20 Los término “oxo” se refiere al grupo =O.

El término “carboxilato” o “carboxilo” se refiere al grupo -COO⁻ o -COOH.

25 El término “ciano” se refiere al grupo -CN.

El término “nitro” se refiere al grupo -NO₂.

El término “amino” se refiere al grupo -NH₂.

30 El término “acilo” o “aldehído” se refiere al grupo -C(=O)H.

El término “amido” o “amida” se refiere al grupo -C(O)NH₂.

35 El término “aminoacilo” o “acilamino” se refiere al grupo -NHC(O)H.

El término “tio” se refiere al grupo -SH.

El término “tioxo” se refiere al grupo =S.

40 El término “sulfinilo” se refiere al grupo -S(=O)H.

El término “sulfonilo” se refiere al grupo -SO₂H.

45 El término “sulfonilamido” o “sulfonamida” se refiere al grupo -SO₂NH₂.

El término “sulfonato” se refiere al grupo SO₃H e incluye grupos que tiene el hidrógeno reemplazado con, por ejemplo, un grupo alquilo C1-6 (“alquilsulfonato”), un arilo (“arilsulfonato”), un aralquilo (“aralquilsulfonato”), y así sucesivamente. Se prefieren sulfonatos C1-3, tales como, por ejemplo, SO₃Me, SO₃Et y SO₃Pr.

50 El término “isómeros”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a estereoisómeros, diastereómeros, enantiómeros y tautómeros. “Tautómeros” pueden ser isómeros que son fácilmente interconvertibles mediante un equilibrio rápido. Por ejemplo, los compuestos de carbonilo que tienen un hidrógeno en su carbono alfa se interconvierten rápidamente con sus enoles correspondientes.

55 Tal como se usa en el presente documento, los términos “alquilo”, “alqueno”, y el prefijo “alqu-” son inclusivos de grupos de cadena lineal y grupos de cadena ramificada y grupos cíclicos, por ejemplo, cicloalquilo y cicloalqueno. A menos que se especifique lo contrario, estos grupos contienen desde 1 hasta 20 átomos de carbono, con grupos alqueno que contienen desde 2 hasta 20 átomos de carbono. En algunas realizaciones, estos grupos tienen un total de como máximo 10 átomos de carbono, como máximo 8 átomos de carbono, como máximo 6 átomos de carbono, o como máximo 4 átomos de carbono. Los grupos cíclicos pueden ser monocíclicos o policíclicos, y preferiblemente tienen desde 3 hasta 10 átomos de carbono en el anillo. Los grupos cíclicos a modo de ejemplo incluyen ciclopropilo, ciclopropilmetilo, ciclopentilo, ciclohexilo, adamantilo, y bornilo, norbornilo y norborneno sustituidos o no sustituidos.

65 El término “heterocíclico” incluye anillos no aromáticos o sistemas de anillo de cicloalquilo o cicloalqueno que contienen al menos un heteroátomo en el anillo (por ejemplo, O, S, N).

A menos que se especifique lo contrario, “alquilenilo” y “alquilenileno” son formas divalentes de grupos “alquilo” y “alqueniilo” definidos anteriormente. Los términos “alquilenilo” y “alqueniilenilo” se usan cuando “alquilenilo” y “alqueniilenilo”, respectivamente, están sustituidos. Por ejemplo, un grupo arilalquilenilo comprende un resto alquilenilo al que se une un grupo arilo.

El término “haloalquilo” es inclusivo de grupos que está sustituidos por uno o más átomos de halógeno, incluyendo grupos perfluorados. Esto también es cierto para otros grupos que incluyen el prefijo “halo-”. Los ejemplos de grupos haloalquilo adecuados son difluorometilo, trifluorometilo, y similares. “Halógenos” son elementos que incluyen cloro, bromo, flúor y yodo.

El término “arilo” tal como se usa en el presente documento incluye hidrocarburos aromáticos o sistemas de anillo monocíclicos o policíclicos. Los ejemplos de grupos arilo incluyen fenilo, naftilo, bifenilo, fluorenilo e indenilo. Los grupos arilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Los grupos arilo incluyen anulenos aromáticos, grupos arilo condensados y grupos heteroarilo. Los grupos arilo también se denominan en el presente documento como anillos arilo.

A menos que se indique lo contrario, el término “heteroátomo” se refiere a los átomos O, S o N.

El término “heteroarilo” incluye anillos aromáticos o sistemas de anillo que contienen al menos un heteroátomo en el anillo (por ejemplo, O, S, N). En algunas realizaciones, el término “heteroarilo” incluye un anillo o sistema de anillo que contiene de 2 a 12 átomos de carbono, de 1 a 3 anillos, de 1 a 4 heteroátomos, y O, S y/o N como heteroátomos. Los grupos heteroarilo adecuados incluyen furilo, tienilo, piridilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolilo, isoindolilo, triazolilo, pirrolilo, tetrazolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, tiazolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, carbazolilo, benzoxazolilo, pirimidinilo, bencimidazolilo, quinoxalinilo, benzotiazolilo, naftiridinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, purinilo, quinazolinilo, pirazinilo, 1-oxidopiridilo, piridazinilo, triazinilo, tetrazinilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, y así sucesivamente.

Los términos “arileno” y “heteroarileno” son las formas divalentes de los grupos “arilo” y “heteroarilo” definidos anteriormente. Los términos “arilenilo” y “heteroarilenilo” se usan cuando “arileno” y “heteroarileno”, respectivamente, están sustituidos. Por ejemplo, un grupo alquilarileno comprende un resto arileno al que se une un grupo alquilo.

El término “anillo de arilo condensado” incluye anillos aromáticos o sistemas de anillo carbocíclicos condensados. Los ejemplos de anillos de arilo condensados incluyen benzo, nafto, fluoreno e indeno.

El término “anuleno” se refiere a grupos arilo que son hidrocarburos monocíclicos completamente conjugados. Los ejemplos de anulenos incluyen ciclobutadieno, benceno y ciclooctatetraeno. Los anulenos presentes en un grupo arilo tendrán normalmente uno o más átomos de hidrógeno sustituidos con otros átomos tales como carbono.

Cuando un grupo está presente más de una vez en cualquier fórmula o esquema descrito en el presente documento, cada grupo (o sustituyente) se selecciona independientemente, ya sea explícitamente indicado o no. Por ejemplo, para la fórmula $-C(O)NR_2$, cada uno de los dos grupos R se selecciona independientemente.

Como medio de simplificar la descripción y la enumeración de determinada terminología usada durante toda esta solicitud, los términos “grupo” y “resto” se usan para diferenciar entre especies químicas que permiten la sustitución o que pueden ser sustituidas y aquellas que, en la realización particular de la invención, no permiten la sustitución o no pueden ser sustituidas. Por tanto, cuando el término “grupo” se usa para describir un sustituyente químico, el material químico descrito incluye el grupo no sustituido y ese grupo con átomos no peroxídicos O, N, S, Si o F, por ejemplo, en la cadena así como en grupos carbonilo u otros sustituyentes convencionales. Cuando el término “resto” se usa para describir un compuesto químico o sustituyente, solo se pretende incluir un material químico no sustituido. Por ejemplo, la expresión “grupo alquilo” pretende incluir no solo sustituyentes alquilo de hidrocarburos saturados de cadena abierta puros, tales como metilo, etilo, propilo, *terc*-butilo, y similares, sino también sustituyentes alquilo que además presentan sustituyentes conocidos en la técnica, tales como hidroxilo, alcoxilo, alquilsulfonilo, átomos de halógeno, ciano, nitro, amino, carboxilo, etc. Por tanto, “grupo alquilo” incluye grupos éter, haloalquilos, nitroalquilos, carboxialquilos, hidroxialquilos, sulfoalquilos, etc. Por otro lado, la expresión “resto alquilo” se limita a la inclusión de solo sustituyentes alquilo de hidrocarburos saturados de cadena abierta puros, tales como metilo, etilo, propilo, *terc*-butilo, y similares.

La invención es inclusiva de los compuestos descritos en el presente documento (incluyendo productos intermedios) en cualquiera de sus formas farmacéuticamente aceptables, que incluyen isómeros (por ejemplo, diastereómeros y enantiómeros), tautómeros, sales, solvatos, polimorfos, profármacos, y similares. En particular, si un compuesto es activo ópticamente, la invención específicamente incluye cada uno de los enantiómeros del compuesto así como las mezclas racémicas de los enantiómeros. Debe entenderse que el término “compuesto” incluye cualquiera o todas de dichas formas, ya sea explícitamente indicado o no (aunque a veces, “sales” se indica explícitamente).

“Farmacéuticamente aceptable” tal como se usa en el presente documento significa que el compuesto o la composición o el vehículo es adecuado para administración a un sujeto para lograr los tratamientos descritos en el presente documento, sin efectos secundarios indebidamente perjudiciales a la luz de la necesidad del tratamiento.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz” o “dosificación farmacéuticamente apropiada”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de los compuestos o dosificaciones que suscitarán la respuesta médica o biológica de un sujeto, un tejido o una célula que está buscando el investigador, el veterinario, el doctor u otro médico.

5 Tal como se usa en el presente documento, “vehículo farmacéuticamente aceptable” incluye cualquiera y todos los polvos secos, los disolventes, los medios de dispersión, los recubrimientos, los agentes antibacterianos y antifúngicos, los agentes isotónicos, los agentes retardadores de la absorción, y similares. Los vehículos farmacéuticamente
10 aceptables son materiales, útiles con el fin de administrar los compuestos en el método de la presente invención, que son preferiblemente no tóxicos, y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos, que de otro modo son inertes y farmacéuticamente aceptables, y son compatibles con los compuestos de la presente invención. Los ejemplos de dichos vehículos incluyen aceites tales como aceite de maíz, tampones tales como PBS, solución salina, polietilenglicol, glicerina, polipropilenglicol, dimetilsulfóxido, una amida tal como dimetilacetamida, una proteína tal como albúmina, y un detergente tal como Tween 80, mono- y oligopolisacáridos tales como glucosa, lactosa, ciclodextrinas y almidón.

15 El término “administrar” o “administración”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a proporcionar el compuesto o la composición farmacéutica de la invención a un sujeto que padece o está en riesgo de las enfermedades o estados que van a tratarse o prevenirse.

20 El término “administración sistémica”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier método de administración adecuado que puede administrar los compuestos en la presente invención de manera sistémica. En una realización, la administración sistémica puede seleccionarse del grupo que consiste en administración oral, parenteral, intranasal, inhaladora, sublingual, rectal y transdérmica.

25 Una vía de administración en farmacología y toxicología es la ruta por la que un fármaco, un fluido, un veneno u otra sustancia se introduce en el cuerpo. Las vías de administración pueden clasificarse generalmente por la ubicación en la que se aplica la sustancia. Los ejemplos comunes pueden incluir administración oral e intravenosa. Las vías también pueden clasificarse basándose en dónde se encuentra la diana de la acción. La acción puede ser tópica (local), enteral (efecto de todo el sistema, pero administrada a través del tubo gastrointestinal) o parenteral (acción sistémica, pero
30 administrada a través de otras vías distintas al tubo GI).

Una administración tópica enfatiza el efecto local, y la sustancia se aplica directamente donde se desea su acción. Algunas veces, sin embargo, el término tópica puede definirse como aplicado a un área localizada del cuerpo o a la superficie de un parte del cuerpo, sin implicar necesariamente el efecto objetivo de la sustancia, lo que hace que la
35 clasificación sea una variante de la clasificación basada en la ubicación de la aplicación. En una administración enteral, el efecto deseado es sistémico (no local), la sustancia se administra a través del tubo digestivo. En una administración parenteral, el efecto deseado es sistémico, la sustancia se administra mediante vías distintas al tubo digestivo.

40 Los ejemplos para administraciones tópicas pueden incluir epicutánea (aplicación sobre la piel), por ejemplo, pruebas de alergia o de anestesia local típica, inhalatoria, por ejemplo medicamentos para el asma, enema, por ejemplo, medios de contraste para imagen del intestino, gotas para los ojos (sobre la conjuntiva), por ejemplo, antibióticos para la conjuntivitis, gotas para los oídos, tales como antibióticos y corticosteroides para la otitis externa, y aquellos a través de las membranas mucosas en el cuerpo.

45 La administración enteral puede ser una administración que implica cualquier parte del tubo gastrointestinal y que tiene efectos sistémicos. Los ejemplos pueden incluir aquellos por la boca (vía oral), muchos fármacos como comprimidos, cápsulas o gotas, aquellos por sonda de alimentación gástrica, sonda de alimentación duodenal o gastrostomía, muchos fármacos y nutrición enteral, y aquellos por vía rectal, diversos fármacos en supositorios.

50 Los ejemplos para administraciones parenterales pueden incluir intravenosa (en una vena), por ejemplo muchos fármacos, nutrición parenteral total intraarterial (en una arteria), por ejemplo, fármacos vasodilatores en el tratamiento de vasoespasmo y fármacos trombolíticos para el tratamiento de embolia, infusión intraósea (en la médula ósea), intramuscular, intracerebral (en la parénquima cerebral), intracerebroventricular (en el sistema ventricular cerebral), intratecal (una inyección en el canal espinal) y subcutánea (bajo la piel). Entre ellos, la infusión intraósea es, en efecto,
55 un acceso intravenoso indirecto porque la médula espinal drena directamente en el sistema venoso. La infusión intraósea puede usarse de manera ocasional para fármacos y fluidos en medicina de urgencias y pediatría cuando el acceso intravenoso es difícil.

60 Cualquier vía de administración puede ser adecuada para la presente invención. En una realización, el compuesto de la presente invención puede administrarse al sujeto mediante inyección intravenosa. En otra realización, los compuestos de la presente invención pueden administrarse al sujeto mediante cualquier otra administración sistémica adecuada, tal como administración oral, parenteral, intranasal, sublingual, rectal o transdérmica.

65 En otra realización, los compuestos de la presente invención pueden administrarse al sujeto mediante sistemas nasales o a través de la boca, por ejemplo, mediante inhalación.

En otra realización, los compuestos de la presente invención pueden administrarse al sujeto mediante inyección intraperitoneal o inyección IP.

5 Tal como se usa en el presente documento, el término "inyección intraperitoneal" o "inyección IP" se refiere a la inyección de una sustancia en el peritoneo (cavidad corporal). La inyección IP se aplica más frecuentemente a animales que a seres humanos. En general, la inyección IP se prefiere cuando se necesitan grandes cantidades de líquidos de reemplazo de sangre, o cuando la presión sanguínea baja u otros problemas impiden el uso de un vaso sanguíneo adecuado para la inyección intravenosa.

10 En animales, la inyección IP se usa predominantemente en medicina veterinaria y pruebas en animales para la administración de fármacos y fluidos sistémicos debido a la facilidad de administración en comparación con otros métodos parenterales.

15 En seres humanos, el método de inyección IP se usa ampliamente para administrar fármacos de quimioterapia para tratar algunos cánceres, en particular el cáncer de ovario. Aunque es controvertido, este uso específico se ha recomendado como tratamiento habitual.

20 Determinados compuestos contenidos en composiciones de la presente invención pueden existir en formas geométricas o estereoisoméricas particulares. Además, los polímeros de la presente invención también pueden ser activos ópticamente. La presente invención considera todos estos compuestos, incluyendo los isómeros cis- y trans-, los enantiómeros R- y S-, los diastereómeros, los isómeros (D), los isómeros (L), las mezclas racémicas de los mismos, y otras mezclas de los mismos, mientras estén dentro del alcance de la invención. Los átomos de carbono asimétricos adicionales pueden estar presentes en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Todos estos isómeros, así como las mezclas de los mismos, pretenden estar incluidos en esta invención.

25 Si se desea, por ejemplo, un enantiómero particular de un compuesto de la presente invención, puede prepararse mediante síntesis asimétrica, o mediante derivación con un auxiliar quiral, donde la mezcla diastereomérica resultante se separa y el grupo auxiliar se escinde para proporcionar los enantiómeros deseados puros. Alternativamente, cuando la molécula contiene un grupo funcional básico, tal como amino, o un grupo funcional ácido, tal como carboxilo, se forman las sales diastereoméricas con un ácido o base activo ópticamente apropiado, seguido por la resolución de los diastereómeros así formados mediante cristalización fraccional o medios cromatográficos bien conocidos en la técnica, y la posterior recuperación de los enantiómeros puros.

30 Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que dicha sustitución es según la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución da como resultado un compuesto estable, por ejemplo, que no experimenta de manera no espontánea una transformación tal como por reordenamiento, ciclación, eliminación u otra reacción.

35 El término "sustituido" se considera también para incluir todos los sustituyentes permitidos de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permitidos incluyen sustituyentes de compuestos orgánicos acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos. Los sustituyentes a modo de ilustración incluyen, por ejemplo, aquellos descritos anteriormente en el presente documento. Los sustituyentes permitidos pueden ser uno o más y los mismos o diferentes para compuestos orgánicos apropiados. Para los propósitos de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno puede tener sustituyentes hidrógeno y/o cualquier sustituyente permitido de compuestos orgánicos descritos en el presente documento que satisfagan las valencias de los heteroátomos. Esta invención no pretende limitarse de ninguna manera por los sustituyentes permitidos de compuestos orgánicos.

40 Para los fines de esta invención, los elementos químicos se identifican según la tabla periódica de los elementos, versión CAS, "Handbook of Chemistry and Physics", 67ª ed., 1986-87, cubierta interior.

Tal como se usa en el presente documento, el término "sujeto" o "individuo" se refiere a un ser humano u otro animal vertebrado. Se pretende que el término abarque "pacientes".

55 El término "sinérgico" se refiere a una combinación que es más eficaz que los efectos aditivos de cualesquiera dos o más agentes individuales. Un efecto sinérgico permite el tratamiento eficaz de una enfermedad usando cantidades (dosis) menores de una terapia individual. Las dosis menores dan como resultado una toxicidad menor sin eficacia reducida. Además, un efecto sinérgico puede dar como resultado una eficacia mejorada. Finalmente, la sinergia puede dar como resultado una evasión o reducción mejorada de la enfermedad en comparación con cualquier terapia individual.

60 La terapia de combinación puede permitir el producto de dosis menores del primer o del segundo agente terapéutico (denominado como "sinergia aparente de una vía" en el presente documento) o dosis menores de ambos agentes terapéuticos (denominado "sinergia de dos vías" en el presente documento) de lo que se requeriría normalmente cuando se usa cada fármaco por separado.

65

Tal como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, los medios de dispersión, los recubrimientos, los agentes antibacterianos y antifúngicos, los agentes isotónicos, los agentes retardadores de la absorción, y similares. Los vehículos farmacéuticamente aceptables son materiales, útiles con el fin de administrar los compuestos en el método de la presente invención, que son preferiblemente no tóxicos, y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos, que de otro modo son inertes y farmacéuticamente aceptables, y son compatibles con los compuestos de la presente invención. Los ejemplos de dichos vehículos incluyen aceites tales como aceite de maíz, tampones tales como PBS, solución salina, polietilenglicol, glicerina, polipropilenglicol, dimetilsulfóxido, una amida tal como dimetilacetamida, una proteína tal como albúmina, y un detergente tal como Tween 80, mono- y oligopolisacáridos tales como glucosa, lactosa, ciclodextrinas y almidón.

La formulación usada en la presente invención puede contener también estabilizantes, conservantes, tampones, antioxidantes u otros aditivos conocidos para los expertos en la técnica. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Los compuestos activos suplementarios se pueden incorporar también en agentes de imagen de la invención. El agente de imagen de la invención puede administrarse además a un individuo en un diluyente o adyuvante apropiado, coadministrarse con inhibidores de enzimas o en un vehículo apropiado tal como albúmina sérica humana o liposomas. Los diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen solución salina estéril y otras disoluciones tampón acuosas. Los adyuvantes considerados en el presente documento incluyen resorcinoles, tensioactivos no iónicos tales como polioxietileno oleil éter y n-hexadecil polietileno éter. Los inhibidores de enzimas incluyen inhibidor de la tripsina pancreática, dietilpicrocarbonato y trasilol. Los inhibidores de liposomas incluyen emulsiones CGF de agua en aceite en agua, así como liposomas convencionales (véase J. Neuroimmunol. 1984, 7, 27).

Tal como se describe en el presente documento, determinadas realizaciones de los compuestos presentes pueden contener un grupo funcional básico, tal como amino o alquilamino, y son, por tanto, capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" a este respecto, se refiere a sales de adición de ácidos inorgánicos y orgánicos relativamente no tóxicos de compuestos de la presente invención. Estas sales pueden prepararse *in situ* en el vehículo de administración o en el proceso de fabricación de la forma de dosificación, o al hacer reaccionar de manera separada un compuesto purificado de la invención en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal así formada durante la purificación posterior. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato y laurilsulfonato, y similares. Véase J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos en cuestión incluyen las sales no tóxicas convencionales o sales de amonio cuaternario de los compuestos, por ejemplo, a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, dichas sales no tóxicas convencionales incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico, y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, palmítico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etanodisulfónico, oxálico, isotiónico, y similares.

En otros casos, los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, por tanto, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" en estos casos se refiere a las sales de adición de base inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de compuestos de la presente invención. Estas sales pueden prepararse del mismo modo *in situ* en el vehículo de administración o en el proceso de fabricación de la forma de dosificación, o al hacer reaccionar de manera separada un compuesto purificado de la invención en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable, con amoniaco o con una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas y alcalinotérricas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de base incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares (véase, por ejemplo, J. Pharm. Sci. 1977., arriba)

Más específicamente, los compuestos que pueden formularse en una composición farmacéutica incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz del primer compuesto, una cantidad terapéuticamente eficaz del segundo compuesto y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos y del vehículo específico farmacéuticamente aceptable variará dependiendo de, por ejemplo, la edad, el peso, el sexo del sujeto, el modo de administración y el tipo de estado viral que va a tratarse.

En un aspecto particular, la composición farmacéutica que puede usarse incluye los compuestos de la presente invención en una forma de dosificación unitaria eficaz. Tal como se usa en el presente documento, el término "dosificación unitaria eficaz" o "dosis unitaria eficaz" se usa en el presente documento para significar una cantidad predeterminada suficiente para ser eficaz contra la EA o similares. Los ejemplos incluyen cantidades que permiten el

tratamiento de depósitos de amiloides *in vivo* o *in vitro* que producen niveles de biodisponibilidad y de toxicidad aceptables para su uso farmacéutico, y/o prevenir la degeneración celular y la toxicidad asociada con la formación de fibrillas.

5 Las composiciones farmacéuticas pueden contener el primer compuesto o el segundo compuesto usados en el método de esta invención en una cantidad de desde el 0,01 hasta el 99% en peso de la composición total, preferiblemente del 0,1 al 80% en peso de la composición total. Para administración oral, el primer compuesto o el segundo compuesto se administran generalmente en una cantidad de 0,1 g/cuerpo a 15 g/cuerpo, preferiblemente de 0,5 g/cuerpo a 5 g/cuerpo. Para inyección intravenosa, la dosis puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 30 mg/kg/día, preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 mg/kg/día. Si se aplica por vía tópica como un líquido, una pomada o una crema, el primer compuesto o el segundo compuesto pueden estar presentes en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg/ml, preferiblemente de aproximadamente 0,5 a 30 mg/ml de la composición.

15 Para administración sistémica, la dosificación diaria empleada para el tratamiento de un humano adulto oscilará entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 150 mg/kg, preferiblemente entre aproximadamente 0,2 mg/kg y aproximadamente 80 mg/kg.

20 Los expertos en la técnica reconocerán, o podrán determinar usando no más que experimentación de rutina, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descritas en el presente documento. Se pretende que dichos equivalentes estén abarcados por las siguientes reivindicaciones.

Ejemplos

25 Ejemplo 1.

Tratamiento de combinación de cromolina e ibuprofeno.

30 Lo siguiente es un cálculo de ejemplo de dosificación para cromolina:

1. La administración de cromolina eficaz para el tratamiento de EA es diferente de manera significativa de aquella de cromolina para la inflamación del pulmón y el asma. Para la inflamación del pulmón o el asma, los sujetos usan dispositivos de inhalación 1-4 veces por día; cada dosis inhalada contiene 20 mg de polvo seco.
- 35 2. El polvo de cromolina seco (tamaño habitual >5 micrómetros) se formula con lactosa con un tamaño mucho mayor.
3. Cuando se inhala, el polvo seco de cromolina se separa de la lactosa por medio de la acción del dispositivo inhalador (Spinhaler, Cyclohaler o inhaladores monodosis) o en la parte superior de las vías respiratorias, y la cromolina seca se administra al pulmón.
- 40 4. La cromolina también se ha administrado como una disolución que entra por medio del sistema gástrico.

45 Para la EA, estos tratamientos no resultarán en ninguna acción significativa sobre la progresión o modificación de la EA.

50 Para que el tratamiento de la EA sea eficaz, el fármaco tiene que administrarse por vía sistémica para permitir la captación cerebral. Por tanto, el polvo seco de cromolina tiene que ser <3 micrómetros. En determinadas realizaciones, la cromolina es desde aproximadamente 0,5 micrómetros hasta aproximadamente 1,5 micrómetros de diámetro. Los polvos de este tamaño alcanzarán los ganglios alvulares y se administrarán por vía sistémica.

La dosis estimada para el tratamiento diario es de aproximadamente 16 mg por sujeto por día, de aproximadamente 4 mg por sujeto por día, o de aproximadamente 1 mg por sujeto por día.

55 De la biodistribución preliminar de un análogo de cromolina marcado con F-18, la captación cerebral es de aproximadamente el 1% de dosis por gramo en el cerebro. Por tanto, se estima que de una dosis de 16 mg, para 1 mg tomado por vía sistémica, se tomarán 0,01 mg en el cerebro. La dosis estimada por gramo de cerebro será de 0,01/1500 gramos (masa cerebral promedio); esto equivale a 7 ng/gramo de cerebro. Esta cantidad retrasa la polimerización del péptido A β diario producido en el cerebro. Por tanto, deberán ser eficaces cantidades que son 5 veces inferiores a los 80 mg usados para el tratamiento del asma. La cromolina tiene una LogP de 1,9, un PSA de 189 y un % de PSA de 44 (JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, VOL. 92, N.º 6, junio de 2003).

65 Los datos de inhibición mostraron que la cromolina inhibe en 8 veces la polimerización del péptido A β . Otros experimentos de inhibición mostraron que la cromolina inhibe la polimerización del péptido A β en concentraciones de 5 nM.

En combinación con cromolina, una dosis de 2 mg de ibuprofeno podría darse como pastilla, cápsula o líquido. Esta dosis baja de ibuprofeno es suficiente para tratar la respuesta a la inflamación invisible para el péptido A β . Dosis mayores pueden funcionar inicialmente, pero pueden empeorar a los sujetos de EA a la larga.

5 Ejemplo 2.

Experimentos *in vivo* del tratamiento de combinación de cromolina e ibuprofeno.

10 Se sometieron a prueba tres grupos de ratones (cinco animales en cada uno) en una prueba del laberinto acuático de Morris. Dos grupos eran APP/PS1 de 4 meses de edad que incluían un ratón A β mutante y un modelo indicativo de la progresión de la enfermedad de Alzheimer. Un grupo de APP/PS1 se trató con combinación de cromolina e ibuprofeno durante seis meses, y el segundo grupo no se trató como grupo de control y se usó un tercer tipo natural no tratado como control normal. La figura 1 es una gráfica que muestra el resumen del estudio *in vivo*. WT (tipo natural, panel derecho) muestra ratones no tratados normales. El grupo de control (panel izquierdo) muestra ratones transgénicos que no recibieron tratamiento de fármaco. El grupo tratado (panel intermedio) muestra ratones transgénicos que recibieron AZLT-OP1 (cromolina + ibuprofeno) durante seis meses mediante inyección intraperitoneal (IP) dos veces a la semana. Los ratones se entrenaron durante 7 días para recordar la ubicación de la plataforma. Al día 8, la plataforma se retiró, y se registraron las veces que cruzaban el área de la plataforma.

20 En otro estudio, ratones APP/PS1 de 7,5 meses de edad tratados completos durante una semana como tratamiento agudo usando tres dosis diferentes de cromolina de sodio (1,05 mg/kg, 2,1 mg/kg y 3,15 mg/kg). El tratamiento se dio mediante inyección IP todos los días durante 7 días antes de sacrificar a los ratones y extraer el cerebro. Los extractos de cerebro se cuantificaron para una cantidad total de A β 40, A β 42 y oligómeros A β . La figura 4 representa los resultados del tratamiento *in vivo* de cromolina e ibuprofeno del modelado de ratones transgénicos similar al de la enfermedad de Alzheimer.

Aquí están las conclusiones principales de este estudio agudo.

- 30 1. Se observó una disminución dependiente de la dosis en la cantidad de A β 40 y A β 42 asociada con las dos dosis mayores (2,1 mg/kg y 3,15 mg/kg), hasta del 50%.
2. Este efecto se mantuvo después del tratamiento de las muestras con guanidina-HCl para disolver cualquier agregado amiloide.
- 35 3. La cuantificación de las especies oligoméricas usando el kit ELISA 82E1/82E1 no pudo mostrar ninguna diferencia entre los grupos experimentales.

40 Una explicación del cambio insignificante es que la exposición aguda al tratamiento de cromolina de sodio afecta ante todo a las especies monoméricas, que impacta a los oligómeros o a los agregados de orden superior al plazo del tratamiento más largo crónico. El tratamiento agudo no causaría un cambio sustancial en las cantidades oligoméricas.

Ejemplo de referencia 3.

45 Derivados de cromolina para inhibir la polimerización de los oligómeros de la enfermedad de Alzheimer y tratar la enfermedad de Alzheimer.

En otro experimento, se sometieron a prueba los derivados de cromolina como inhibidores de la polimerización de A β . Inhibir la producción de oligómeros A β proporcionará de enfermedad de Alzheimer y tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

50 El producto de investigación ALZT-OP1a (cromolina de sodio) es un derivado de cromona sintético que se ha aprobado para su uso por la FDA desde la década de 1970 para el tratamiento del asma. Para el tratamiento del asma, se micronizó el polvo de cromolina de sodio para la inhalación a los pulmones mediante un inhalador de polvo seco, por ejemplo, un dispositivo Spinhaler. El líquido intranasal y las formulaciones oftálmicas también se han desarrollado para el tratamiento de rinitis y conjuntivitis.

60 El mecanismo de acción para la cromolina de sodio (ALZT-OP1a) se caracteriza como un estabilizador de mastocitos, es decir para suprimir la liberación de citocinas de los linfocitos activados junto con prevenir la liberación de histamina de los mastocitos (Netzer, 2012; Keller, 2011). Se administró cuatro veces al día como profilaxis para el asma alérgico e inducido por el ejercicio, no como un tratamiento para ataques agudos.

65 Los solicitantes han descubierto un nuevo mecanismo de acción para la cromolina, el cual, junto con su papel para suprimir las respuestas inmunitarias, permite la reutilización de este fármaco aprobado para su uso para detener la progresión de EA. Los estudios de los solicitantes han mostrado que la cromolina de sodio se une a péptidos beta-amiloides e inhibe su polimerización a oligómeros y agregados de orden superior. La inhibición de la polimerización

de beta-amiloides detendrá la intoxicación mediada por amiloides de neuronas y restablecerá el paso de estos oligómeros beta-amiloides anómalos fuera del cerebro en lugar de su acumulación.

5 Los estudios de los solicitantes mostraron que la cromolina o sus derivados penetran la barrera hematoencefálica en modelos animal, de forma que la biodisponibilidad en plasma tras la inhalación de cromolina se traducirá en concentraciones en el cerebro suficientes para interferir con la oligomerización y acumulación de beta-amiloides. La inhalación de cromolina de sodio mostró ser la vía de administración no inyectada más eficaz para la biodisponibilidad sistémica de cromolina de sodio en animales y seres humanos (Moss, 1970; Neale, 1986; Richards, 1987; Aswania, 1999; Tronde, 2003). Una vía de administración aprobada por la FDA para cromolina de sodio es la inhalación oral
10 usando un inhalador de polvo seco basado en una cápsula, con 20 mg de cromolina de sodio cargados por cápsula. Los estudios han mostrado que con altas tasas de inspiración, la cromolina de sodio inhalada se administra de manera eficaz al pulmón humano, con el 10-15% de la dosis que administra el fármaco inhalada absorbida en el torrente sanguíneo (Richards, 1987; Keller, 2011). Por estas razones, se seleccionó la inhalación de cromolina de sodio con un dispositivo inhalador de polvo seco como la vía de administración en la presente invención. Sin embargo, se informa
15 que los niveles en plasma de cromolina tras la inhalación muestran variabilidad dentro y entre sujetos alta, y que la captación de cromolina por asmáticos fue inferior que en voluntarios sanos (Richards, 1987; Keller, 2011).

Para los estudios de seres humanos planeados, cada blíster contendrá el principio del producto activo (cromolina de sodio) y lactosa monohidratada de calidad para inhalación como excipiente. La dosis de cromolina de una vez al día que va a someterse a prueba en este estudio es de menos del 20% la dosis del nivel de dosis aprobado para cuatro veces al día (80 mg de cromolina de sodio en total por día) para el tratamiento del asma.

Tomadas juntas, la dosis de ALZT-OP1a una vez al día en este estudio debe conservar la excelente seguridad y el perfil de tolerabilidad del fármaco, todavía se predice de alcanzar las concentraciones de fármaco nanomolares necesarias para bloquear la oligomerización de beta-amiloides en el cerebro para prevenir la progresión de la enfermedad de Alzheimer.

Ejemplo de referencia 4.

30 Derivados de cromolina para inhibir la polimerización de los oligómeros de la enfermedad de Alzheimer.

La figura 5 ilustra la medición del nivel de A β solubles en TBS mediante ELISA WAKO. Los experimentos muestran que el nivel de A β solubles en TBS disminuye tras el tratamiento de cromolina de sodio con dependencia de la dosis. La figura 5A muestra que el nivel de A β 40 disminuye tras el tratamiento de cromolina de sodio con dependencia de la dosis. La figura 5B muestra que el nivel de A β 42 disminuye tras el tratamiento de cromolina de sodio con dependencia de la dosis. Tal como se indica, el número de animales por grupo es N = 3 ó 5, promedio \pm DE. El valor de p es significativo usando la prueba de ANOVA de una vía (prueba de Bonferroni). Tanto los A β solubles totales [mostrados como Gdn+ (guanidina-HCl)] como el A β monomérico [mostrado como Gdn-(no guanidina)] disminuyen después de la adición de cromolina de sodio. La dosis de 2,1 mg/kg de cromolina de sodio fue suficiente para disminuir los A β solubles en TBS.

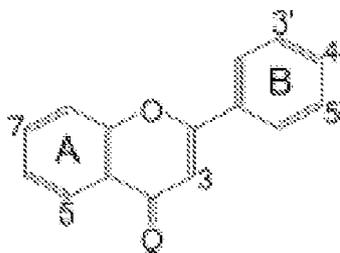
La figura 6 ilustra la medición del nivel de ELISA de oligómeros de IBL del nivel de oligómeros A β solubles en TBS (82E1-82E1). Los experimentos muestran que el nivel de oligómeros A β no cambió tras el tratamiento con cromolina de sodio. La figura 6A muestra los experimentos ELISA de oligómeros A β IBL (82E1-82E1). Las figuras 6B y 6C muestran la diferencia de los experimentos con Gdn y aquellos sin Gdn usando ELISA WAKO. N = 3 ó 5 por grupo, promedio \pm DE. El valor de p no es significativo usando la prueba de ANOVA de una vía (prueba de Bonferroni). Ambos ELISA (ELISA de oligómero IBL y las diferencias entre con y sin Gdn usando ELISA WAKO) mostraron que el nivel de oligómeros no cambió tras el tratamiento de cromolina de sodio.

50 Ejemplo de referencia 5.

Descripción

Los solicitantes resumen los fundamentos detrás del tratamiento tal como sigue:

55 1. La estructura molecular es similar a algunas que tenían afinidad a placas (fórmula I y tabla 1). La diferencia significativa es que el fármaco en la presente invención funciona en concentraciones nanomolares en comparación con las concentraciones micromolares de otros fármacos previos.

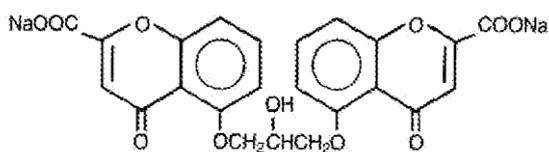


(I)

Compuesto	Sustituyentes						Efectos sobre la formación de fibrillas de A β
	3	5	7	3'	4'	5'	
Fisetina	OH	H	OH	OH	OH	H	Inhibidor
3',4',7'-Trihidroxiflavona	H	H	OH	OH	OH	H	Inhibidor
3',3',4'-Trihidroxiflavona	OH	H	H	OH	OH	H	Inhibidor
3',3',7'-Trihidroxiflavona	OH	H	OH	OH	H	H	Potenciador
5-Desoxikaempferol	OH	H	OH	H	OH	H	Potenciador
Luteolina	H	OH	OH	OH	OH	H	Inhibidor
Quercetina	OH	OH	OH	OH	OH	H	Inhibidor
Crisina	H	OH	OH	H	H	H	Potenciador
Kaempferol	OH	OH	OH	H	OH	H	Potenciador
Miricetina	OH	OH	OH	OH	OH	OH	Inhibidor

- 5 2. El peso molecular adecuado de las moléculas en la presente invención permite a las moléculas penetrar al cerebro.

Estructura química:



Fórmula molecular: C₂₃H₁₄Na₂O₁₁

10

Peso molecular: 512,34 [g/mol]

15

3. Las moléculas en la presente invención tienen una lipofiliidad deseable (LogP) y un área superficial de presión (PSA) en el intervalo de penetración del cerebro (tabla 2). El análogo de PIB TS3124 tiene un 4% de concentración cerebral, y un mayor valor de LogP en el intervalo en el que no hay captación usual. Esto se equilibra mediante el PSA mucho menor. LogP se determinó mediante Chemdraw pro, versión 10. PSA se determinó mediante los métodos previos (<http://www.daylight.com/meetings/emugOO/Ertl/tpsa.html>).

Tabla 2. Las estructuras moleculares, el peso molecular, la lipofilicidad (LogP) y el área superficial de presión (PSA).

Compuesto	Estructura	PM	LogP	PSA	PKa
TS734		466,41	2,1	127,20	
C0399		508,38	1,39 para el diácido	125,43	
TS3124		302,37	3,92	45,15	OH: 9,2 NH: 19,2

4. La biodistribución de ratones de la biodistribución de cromolina radiomarcada muestra el 1% de dosis por gramo de cerebro acumulada. La figura 7 ilustra la biodistribución del compuesto A de cromolina radiomarcada tras la inyección intravenosa en ratones. En la figura 7, una captación cerebral de 5, 30 ó 60 minutos, que corresponde a las series 1, 2 ó 3, respectivamente, muestra el 1% de acumulación con algo de o ningún lavado durante el periodo medido.

5. Se confirmó la unión de cromolina a $\alpha\beta$ y su inhibición de la polimerización mediante cuatro métodos independientes. Ensayo de agregación por UV.

Se midieron la agregación del péptido Abeta y el impacto de fármacos para reducir o prevenir la agregación de Abeta mediante un ensayo de absorbancia UV (Findeis, 1999). Se mezclaron los péptidos (1-40) Abeta, a 50 μM , con fármaco 50 μM en tampón de ensayo, y se incubó la placa a temperatura ambiente sobre un lector de placas. Se monitorizó la absorbancia UV a 540 nm a lo largo de un periodo de 2-3 h.

La polimerización de péptidos de monómeros $\text{A}\beta$ en agrupaciones de trímeros y tetrámeros inicia el proceso de agregación de $\text{A}\beta$ en protofibrillas y luego en fibrillas que forman placas amiloides. Los experimentos de polimerización revelaron que el monómero $\text{A}\beta$ alcanzó la polimerización al 50% en 14 minutos. A concentraciones equimoleculares con $\text{A}\beta$, la adición de cromolina inhibió la velocidad de polimerización de $\text{A}\beta$ en 7 veces, es decir que la polimerización al 50% requirió 75 minutos de incubación, en comparación con los 14 minutos en ausencia de fármaco.

Tabla 3. La cromolina inhibe la polimerización de $\text{A}\beta$.

Compuesto sometido a prueba	% de tioflavina T unida	Unión relativa	Aumento relativo en el tiempo de polimerización (veces)
Vehículo	37%	1	1
TS734 (cromolina)	30%	0,82	7,8

Ensayo de unión CL/EM/EM.

Se midió la unión mediante diálisis de equilibrio. Se preformaron fibrillas amiloides incubando el péptido en tampón con agitación durante 120 h a 27°C. Se incubaron los fármacos con fibrillas (péptido 50 μM) en un dispositivo de diálisis de equilibrio RED (Pierce), y se determina la cantidad de agente de prueba en cada lado mediante CL/EM/EM. Se calculó el porcentaje unido como $1 - (\text{conc. libre}/\text{conc. total})$ después de corregir la señal de fondo. Se usó tioflavina T como un control positivo. La unión es el desplazamiento de tioflavina T. La polimerización se clasifica para $\text{A}\beta$ relativos. En general, los compuestos que clasifican altamente en inhibir la polimerización, clasifican bajo en unirse a los agregados, y viceversa.

Ensayo de unión competitiva

Se realizó el ensayo competitivo tal como se describió previamente (Ono y Hayashi, 2009). Se preformaron agregados de péptido amiloide incubando péptido (1-40) $\text{A}\beta$ con tampón durante 3 días a 37°C. Se mezclaron los fármacos a 20 μM con la disolución del ensayo que contenía 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de agregados de péptido amiloide + tioflavina T 3 μM en un lado de un dispositivo de diálisis RED con tampón del ensayo en el otro lado. Tras 4 h de diálisis, se determinó la

cantidad de tioflavina T mediante CL/EM/EM. Se determinó la unión relativa al normalizar la unión en porcentaje mediante la unión en porcentaje del vehículo de control.

Ensayo de agregación de A β mediante tioflavina

5 Uno de los enfoques más utilizados de manera rutinaria para monitorizar la polimerización de A β es el ensayo de unión de tioflavina T. Cuando la tioflavina T se une a estructuras ricas en láminas beta, tales como agregados amiloides, el colorante muestra fluorescencia mejorada y un desplazamiento al rojo característico en su espectro de emisión. Se mezcló péptido A β a 5 μ M con tioflavina T 10 μ M con fármaco a diferentes concentraciones. En ausencia de fármaco, la polimerización de A β muestra fluorescencia de tioflavina T creciente a lo largo de 60-180 min, tal como se muestra en la figura 5.

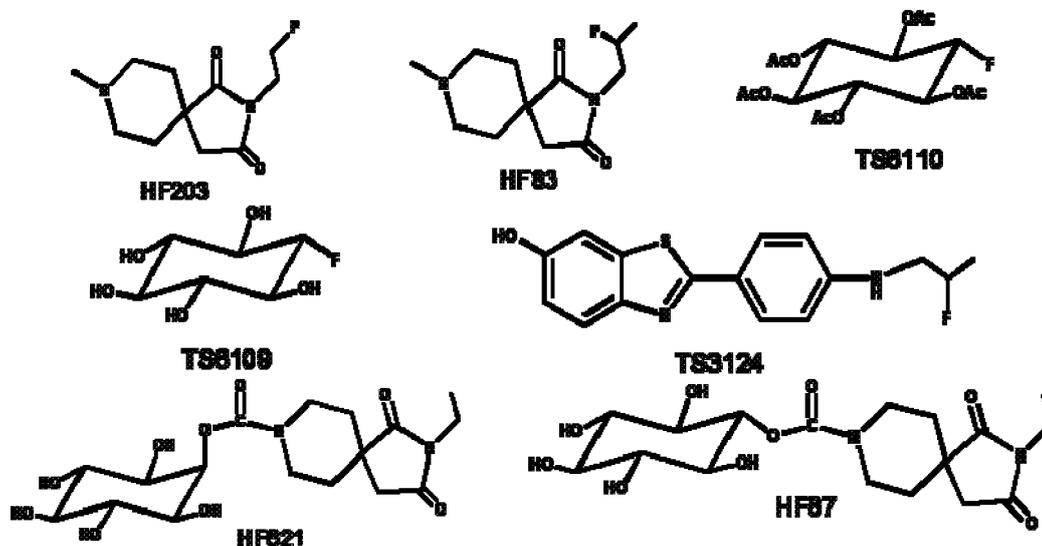
La adición de cromolina (C0399) y su derivado 18 F (TS734) a concentración nanomolar muestra inhibición de la agregación de A β , tal como se muestra en la figura 6.

15 Mediante cuatro ensayos *in vitro* separados, la cromolina de sodio, a concentraciones nanomolares, inhibe de manera eficaz la polimerización del péptido de amiloides A β en oligómeros y agregados de orden superior.

20 6. El análisis preliminar del modelo de unión indica que la cromolina se une a la superficie de la lámina beta a lo largo de la hebra beta de manera similar a la tioflavina T. Las figuras 10 y 11 ilustran las vistas lateral y desde arriba de las estructuras relativas y ubicaciones de cromolina y de A β después de que la cromolina se una a A β a través de una simulación de modelo de unión.

25 7. Los solicitantes sometieron a prueba otras estructuras para tratar la EA además de la cromolina. Se han evaluado varios tipos de compuestos, tanto para agentes de imagen como terapéuticos, para la inhibición de la polimerización del péptidos A β .

En un esfuerzo por combinar la biodisponibilidad y la función dual, los solicitantes han anclado *scyllo*-inositol, que se transporta a lo largo de la barrera hematoencefálica y se conoce por unir y neutralizar oligómeros a complejos solubles (McLaurin, Kierstead, *et al.*, 2006; Sun, Zhang, *et al.*, 2008), a 2-etil-8-metil-2,8-diazoespino-4,5-decan-1,3-diona, al agonista del receptor M1 muscarínico (Palacios, Bolliger, *et al.*, 1986). Se eligió RS-86 porque ha mostrado evidencia de que mejora la función cognitiva, el humor y el comportamiento social en algunos pacientes de EA (Wettstein y Spiegel, 1985). Los receptores M2 funcionan en los terminales de los nervios colinérgicos para regular la liberación de acetilcolina, mientras que los receptores M1 se ubican en células postsinápticas y facilitan la excitación celular (Mash, Flynn, 1985). Dado que las neuronas colinérgicas presinápticas se degeneran en EA mientras que los receptores muscarínicos M1 postsinápticos permanecen intactos, se ha propuesto el uso de agonistas muscarínicos de acción prolongada tales como RS-86 como estrategia de tratamiento para la pérdida de memoria. Sin embargo, RS-86 tiene una baja penetración en el cerebro; combinándolo con inositol usando una unión que puede metabolizarse una vez en el cerebro, puede aumentar la biodisponibilidad del agonista así como mantenerse el efecto beneficioso del inositol. En el pasado, se han radiomarcado tanto inositol, en la forma de 1-fluoro-*scyllo*-inositol, como derivados de RS-86 con F-18 o C-11 como sondas PET potenciales para la EA.



45 8. Se cree que estos compuestos adecuados seleccionan como diana mastocitos al inhibir la producción de citocina, por tanto, un tratamiento adicional de la respuesta inflamatoria asociada con el desencadenante y el progreso de la

EA. En su publicación previa (Jin, Silverman, *et al.*, 2009), Jin y sus colaboradores indican que los compuestos de cromolina potenciales pueden usarse como inhibidores de mastocitos.

Ejemplo de referencia 6.

5

Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE).

10

15

Una evidencia convincente de los estudios de epidemiología múltiple reveló que la administración de dosis a largo plazo con fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) redujo de manera drástica el riesgo de EA en los ancianos, incluyendo la aparición de la enfermedad retardada, la gravedad sintomática reducida y la disminución cognitiva reducida (Veld, 2001; Etminan, 2003; Imbimbo, 2010). Se han propuestos tres mecanismos de cómo los AINE inhiben los procesos que contribuyen a la progresión de la EA: i) inhibiendo la actividad de COX para reducir o prevenir la activación microglial y la producción de citocinas en el cerebro (Mackenzie, 1998; Alafuzoff, 2000; Yan, 2003; Gasparini, 2004; Imbimbo, 2010); ii) reduciendo la deposición de amiloides (Weggen, 2001; Yan, 2003; Imbimbo, 2010); o iii) bloqueando las respuestas de prostaglandina E2 mediadas por COX en sinapsis (Kotilinek, 2008).

20

Por tanto, se predice que los AINE amortiguan la respuesta neuroinflamatoria e impactan la progresión de la EA mediante diversos mecanismos. Cuando se administran junto con fármacos que inhiben la oligomerización de beta-amiloides, se propone que el paradigma de tratamiento de combinación atenúa los múltiples desencadenantes que conducen a la neurodegeneración y la muerte neuronal. La disminución en la actividad cognitiva puede revertirse, debido a la plasticidad neuronal y a la neurogénesis en el hipocampo (Kohman, 2013), si la progresión de la EA se detiene en una etapa muy temprana.

25

Ibuprofeno.

30

El ibuprofeno es un inhibidor de COX no selectivo para tratar la inflamación como un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE). Las enzimas COX convierten determinados ácidos grasos en prostaglandinas. Las prostaglandinas al final de la "cadena" de reacciones que empiece con la enzima COX provocan una sensibilidad aumentada al dolor, a la fiebre y a la vasodilatación (flujo sanguíneo aumentado o inflamación). Al inhibir el comienzo de esta cadena de reacciones, el ibuprofeno por tanto reduce el dolor, la fiebre y la inflamación. Dado que el ibuprofeno bloquea la actividad de ambas enzimas COX, se considera un AINE inhibidor de COX no selectivo.

35

40

La terapia ALZT-OP1 es una terapia de fármaco multifuncional de individuos con deterioro cognitivo leve amnésico. ALZT-OP1 es una terapia de fármaco multifuncional que consiste en administrar cromolina de sodio (ALZT-OP1a) mediante inhalación para inhibir la polimerización de péptidos beta-amiloides y amortiguar las respuestas inmunitarias, más una baja dosis oral concomitante pero administrada de manera separada de comprimido de ibuprofeno (ALZT-OP1b) para inhibir la respuesta neuroinflamatoria en personas con deterioro cognitivo leve amnésico (DCLa) debido a la enfermedad de Alzheimer. Ambos fármacos de principios farmacéuticos activos (API) en esta formulación de ALZT-OP1b son fármacos comercializados y aprobados que se han vuelto a proponer para su uso para prevenir la aparición de la demencia y la progresión de de la enfermedad de Alzheimer.

ALZT-OP1a

45

El producto de investigación ALZT-OP1a (cromolina de sodio) es un derivado de cromona sintético que se ha aprobado para su uso por la FDA desde la década de 1970 para el tratamiento del asma. Para el tratamiento del asma, se micronizó el polvo de cromolina de sodio para la inhalación a los pulmones mediante un inhalador de polvo seco, por ejemplo, un dispositivo Spinhaler. El líquido intranasal y las formulaciones oftálmicas también se han desarrollado para el tratamiento de rinitis y conjuntivitis.

50

El mecanismo de acción para la cromolina de sodio (ALZT-OP1a) se caracteriza como un estabilizador de mastocitos, es decir para suprimir la liberación de citocinas de los linfocitos activados junto con prevenir la liberación de histamina de los mastocitos (Netzer, 2012; Keller, 2011). Se administró cuatro veces al día como profilaxis para el asma alérgico e inducido por el ejercicio, no como un tratamiento para ataques agudos.

55

60

Los solicitantes han descubierto un nuevo mecanismo de acción para la cromolina, el cual, junto con su papel para suprimir las respuestas inmunitarias, permite la reutilización de este fármaco aprobado para su uso para detener la progresión de EA. Los estudios de los solicitantes han mostrado que la cromolina de sodio se une a péptidos beta-amiloides e inhibe su polimerización a oligómeros y agregados de orden superior. La inhibición de la polimerización de beta-amiloides detendrá la intoxicación mediada por amiloides de neuronas y restablecerá el paso de estos oligómeros beta-amiloides anómalos fuera del cerebro en lugar de su acumulación.

65

Los estudios de los solicitantes mostraron que la cromolina o sus derivados penetran la barrera hematoencefálica en modelos animales, de forma que la biodisponibilidad en plasma tras la inhalación de cromolina se traducirá en concentraciones en el cerebro suficientes para interferir con la oligomerización y acumulación de beta-amiloides. La inhalación de cromolina de sodio mostró ser la vía de administración no inyectada más eficaz para la biodisponibilidad sistémica de cromolina de sodio en animales y seres humanos (Moss, 1970; Neale, 1986; Richards, 1987; Aswania,

1999; Tronde, 2003). Una vía de administración aprobada por la FDA para cromolina de sodio es la inhalación oral usando un inhalador de polvo seco basado en una cápsula, con 20 mg de cromolina de sodio cargados por cápsula. Los estudios han mostrado que con altas tasas de inspiración, la cromolina de sodio inhalada se administra de manera eficaz al pulmón humano, con el 10-15% de la dosis que administra el fármaco inhalada absorbida en el torrente sanguíneo (Richards, 1987; Keller, 2011). Por estas razones, se seleccionó la inhalación de cromolina de sodio con un dispositivo inhalador de polvo seco como la vía de administración en la presente invención. Sin embargo, se informa que los niveles en plasma de cromolina tras la inhalación muestran variabilidad dentro y entre sujetos alta, y que la captación de cromolina por asmáticos fue inferior que en voluntarios sanos (Richards, 1987; Keller, 2011).

La mezcla de polvo de cromolina de sodio (ALZT-OP1a) se cargará en blísteres para su uso con un inhalador de polvo seco con actividad del aerosol reproducible en un intervalo de frecuencias inspiratorias. Cada blíster contendrá el principio de producto activo (cromolina de sodio) y lactosa monohidratada de calidad para inhalación como excipiente. La dosis de cromolina para una vez al día que va a someterse a prueba en este estudio es de menos del 20% la dosis del nivel de dosis aprobado para cuatro veces al día (80 mg de cromolina de sodio total por día) para el tratamiento del asma. La dosis se calcula para titular los 22-27 nanogramos diarios estimados de placas amiloides de A β producidos en el cerebro.

Tomados juntos, la dosis de ALZT-OP1a para una vez al día en este estudio debe conservar el excelente perfil de seguridad y de tolerabilidad del fármaco, todavía se predice de alcanzar las concentraciones de fármaco nanomolares necesarias para bloquear la oligomerización de beta-amiloides en el cerebro para prevenir la progresión de la enfermedad de Alzheimer.

ALZT-OP11b (ibuprofeno). El nombre genérico es ácido isobutil-propanoico-fenólico. ALZT-OP1b es un fármaco de venta libre, tomado por vía oral y no requiere receta. El ibuprofeno tiene un largo historial de seguridad. El fármaco se usa para el dolor, la fiebre, las lesiones deportivas y los problemas gastrointestinales. La independencia entre el peso y la dosificación se ha indicado en el envase del fármaco.

El producto de investigación ALZT-OP1b (ibuprofeno) es un inhibidor de COX no selectivo para tratar la inflamación como un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE). Las enzimas COX convierten determinados ácidos grasos en prostaglandinas. Las prostaglandinas al final de la "cadena" de reacciones que empieza con la enzima COX provocan una sensibilidad aumentada al dolor, a la fiebre y a la vasodilatación (flujo sanguíneo aumentado o inflamación). Al inhibir el comienzo de esta cadena de reacciones, el ibuprofeno por tanto reduce el dolor, la fiebre y la inflamación. Dado que el ibuprofeno bloquea la actividad de ambas enzimas COX, se considera un AINE inhibidor de COX no selectivo.

Tal como se describe anteriormente, amortiguar la respuesta neuroinflamatoria impactará la progresión de la EA mediante varios mecanismos. El ibuprofeno, el cual cruza la barrera hematoencefálica humana (Bannworth, 1995; Parepally, 2006), amortigua la producción de citocinas proinflamatorias (Gasparini, 2004), lo que debe contribuir a su utilidad para prevenir la progresión de la EA. Sin embargo, los AINE, tales como rofecoxib y naproxeno, para el tratamiento de la EA han sido no concluyentes o han contribuido a un mayor riesgo de la progresión de la EA cuando se administran como una terapia única en ensayos clínicos (Thai, 2005; Imbimbo, 2010), a pesar de los estudios de epidemiología múltiple que muestran el riesgo de EA reducido en individuos que toman AINE, incluyendo ibuprofeno (Veld, 2001; Etmnan, 2003). Además de la crítica en torno a la elección de rofecoxib y naproxeno como los AINE para la terapia única en EA (Gasparini, 2004), se realizó el ensayo del tratamiento con rofecoxib/naproxeno ADAPT con sujetos que presentaban EA de leve a moderada (Aisen, 2003; Breitner, 2011). Dados los datos de epidemiología, se ha especulado que la administración de AINE puede ser beneficiosa solo muy temprano en la enfermedad (Imbimbo, 2010; Breitner, 2011). La población de pacientes con DCLa es por tanto el grupo que se ha seleccionado para someterse a prueba en este estudio clínico.

Es importante señalar que en los estudios de epidemiología de AINE, la disminución del riesgo de la EA se restringió para AINE que supuestamente disminuyen los niveles de péptido (42-) beta amiloide, tales como ibuprofeno e indometacina (Gasparini, 2004; Imbimbo, 2010), y la administración de dosis a largo plazo con bajas dosis de AINE fue igualmente eficaz que con dosis altas (Broe, 2000; Breitner, 2001). Por tanto, en una cohorte en este ensayo ALZT-OP1, se administrará ibuprofeno por vía oral como comprimidos (ALZT-OP1b) a una menor dosis (menos del 5%) de la dosis aprobada de venta libre más baja. En combinación con el tratamiento de inhalación de cromolina de sodio (ALZT-OP1a), los solicitantes sometieron a prueba la hipótesis de que amortiguar la respuesta neuroinflamatoria de nivel bajo con ibuprofeno contribuirá de manera significativa a prevenir la disminución cognitiva debido a la progresión de la enfermedad de Alzheimer. La dosis se calcula para titular la respuesta inflamatoria invisible estimada en los estadios tempranos de la enfermedad.

La dosificación de ibuprofeno no controlada se asocia con varios efectos secundarios tales como náusea, dolor de cabeza, úlceras, mareos e hipertensión. Un número de casos menor puede provocar insuficiencias renales o cardíacas. La sobredosis de ibuprofeno puede ser peligrosa. La dosis diaria propuesta para este ensayo clínico es 20 veces inferior a la dosis de venta libre, y la dosis anual total totalizada a partir de la dosis diaria crónica es menos de una dosis semanal total de venta libre. No se espera que la toxicidad anual exceda la dosis de venta libre semanal.

Beneficios de riesgo de ALZT-OP1 (cromolina)

El objetivo principal para usar ALZT-OP1 en un sujeto con DCLa es su tratamiento multifuncional predicho de la aparición temprana de signos de deterioro asociados con la enfermedad de Alzheimer. Se espera que la dosis baja de ALZT-OP1a controle la oligomerización de A β y retrase la acumulación en el cerebro de fibrillas de A β extracelulares. Al mismo tiempo, la dosis baja de ALZT-OP1a puede inhibir la producción de citocina de la alta concentración de mastocitos en el cerebro. La dosis baja de ALZT-OP1b (ibuprofeno), un conocido inhibidor de COX no específico, se espera que controle la respuesta inflamatoria asociada con la formación de placas de A β . Los principales beneficios del uso de la dosis baja crónica diaria son que controla y retrasa la cascada patofisiológica de la EA temprana de los principales acontecimientos que desencadenan la degeneración de neuronas y marañas tau intracelulares. El tratamiento con ALZT-OP1 retardará la manifestación de las etapas de la EA tardías, prolongará la vida del paciente, controlará mejor la calidad de vida y reducirá de manera significativa el gasto costoso de la familia y del tratamiento de enfermería y de recursos humanos.

Ambas medicamentos están aprobadas para el tratamiento desde los años setenta. Ambos fármacos mostraron excelentes perfiles de seguridad y de tolerabilidad a dosificaciones muchos mayores. Sin embargo, cada uno de los fármacos tiene sus propios efectos secundarios del tratamiento crónicos y cortos para las dosificaciones usadas.

ALZT-OP1a tiene un largo historial de seguridad en adultos y niños. La cromolina de sodio está disponible como inhaladores dosificadores, y se usan para la prevención y el control del asma a largo plazo disminuyendo la inflamación y mejorando la función del pulmón. La cromolina bloquea la liberación de citocinas de los mastocitos que provocan la inflamación de las vías respiratorias. El fármaco se asocia con efectos secundarios muy leves, como tos, erupción cutánea y dolores de cabeza. Las dosis de tratamiento en este ensayo clínico son de 4-8 veces inferiores a las prescritas y no se espera que provoquen ninguna toxicidad mayor significativa que la dosis para el asma.

Referencias

1. JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, VOL. 92, N.º 6, junio de 2003.
2. J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19.
3. J. Neuroimmunol. 1984, 7, 27
4. Patente estadounidense n.º 7.858.803.
5. Patente estadounidense n.º 6.972.127.
6. Patente estadounidense n.º 6.946.116.
7. Patente estadounidense n.º 6.696.039.
8. Patente estadounidense n.º 6.168.776.
9. Patente estadounidense n.º 5.594.142.
10. Patente estadounidense n.º 4.481.206.
11. Patente estadounidense n.º 4.405.735.
12. Publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 2011/0060138.
13. Netzer N.C. *et al.*, "The actual role of sodium cromoglycate in the treatment of asthma - a critical review" *Sleep Breath* (2012) 16, 1027-1032.
14. Keller, M. and Shierholz, J. "Have inadequate delivery systems hampered the clinical success of inhaled disodium cromoglycate? Time for reconsideration" (2011) 8, 1-17.
15. Moss, G.F. and Ritchie, J.T., "The Adsorption and Clearance of Disodium Cromoglycate from the Lung in Rat, Rabbit, and Monkey" *Toxicol. Applied Pharmacol.* (1970) 17, 699-707.
16. Neale, M.G. *et al.*, "The pharmacokinetics of sodium cromoglycate in man after intravenous and inhalation administration". *Br. J. Clin. Pharmacol.* (1986) 22: 373-382.
17. Richards, et. al, "Absorption and Disposition Kinetics of Cromolyn Sodium and the Influence of Inhalation Technique". *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics* (1987) 241, 1028-1032.

18. Aswania, O.A. *et al.*, "Relatively bioavailability of sodium cromoglycate to the lung following inhalation, using urinary excretions". *J. Clin. Pharmacol.* (1999) 47, 613-618.
- 5 19. Tronde, A. *et al.*, "Pulmonary Absorption Rate and Bioavailability of Drugs In Vivo in Rats: Structure-Absorption Relationships and Physicochemical Profiling of Inhaled Drugs" *J. Pharm. Sci.* (2003) 92, 1216-1233.
- 10 20. Jin Y, Silverman AJ, Vannucci SJ. "Mast cells are early responders after hypoxia-ischemia in immature rat brain." *Stroke*. Sep 2009; 40(9):3107-12.
- 15 21. Aisen P.S. *et al.*, "Effects of Rofecoxib or Naproxen vs. Placebo on Alzheimer Disease Progression" *JAMA* (2003) 289, 2819-2826.
- 20 22. Alafuzoff, I. *et al.*, "Lower counts of Astroglia and Activated Microglia in Patients with Alzheimer's Disease with Regular Use of Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs" *J. Alz. Dis.* (2000) 2, 37-46.
- 25 23. Albert K.S. and Gernaat, C.M., "Pharmacokinetics of ibuprofen" *Am. J. Med* (1984a) 13, 40-46.
- 20 24. Albert, K.S. *et al.*, "Effects of age on clinical pharmacokinetics of ibuprofen" *Am. J. Med.* (1984b) 13,47-50.
- 25 25. Aswania, O.A. *et al.*, "Relatively bioavailability of sodium cromoglycate to the lung following inhalation, using urinary excretions". *J. Clin. Pharmacol.* (1999) 47, 613-618.
- 30 26. Bannworth, B. "Stereoselective disposition of ibuprofen enantiomers in human cerebrospinal fluid" *Br. J. Clin. Pharmacol.* (1995) 40, 266-269.
- 35 27. Beach, J.E. *et al.*, "Cromolyn Sodium Toxicity Studies in Primates" *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (1981) 57, 367-400.
- 40 28. Breitner, J., "Alzheimer's disease: the changing view" *Annals Neurol.* (2001) 49, 418-419.
- 45 29. Breitner, J.C. *et al.*, "Extended results of the Alzheimer's disease anti-inflammatory prevention trial" *Alz. Dementia* (2011) 402-411.
- 50 30. Broe, G.A. *et al.*, "Anti-inflammatory drugs protect against Alzheimer's disease at low doses". *Arch Neurol.* (2000) 57, 1586-1591.
- 55 31. Cummings, J.L., "Alzheimer's Disease". *N Engl J Med* (2004) 351, 56-67.
- 60 32. Doody, R.S. *et al.*, "Donepezil treatment of patients with MCI". *Neurology* (2009) 72, 1555-1581.
33. Davies, N.M. "Clinical Pharmacokinetics of Ibuprofen: the first 30 years" *Clin Pharmacokinetics* (1998) 34, 101-158.
34. Etminan, M. *et al.*, "Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on risk of Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of observational studies". *Brit. Med. Journal* (2003) 327, 1-5
35. Gasparini, L. *et al.*, "Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in Alzheimer's disease: old and new mechanisms of action". *J. Neurochem* (2004) 91, 521-536.
36. Griffin, T. S., "What causes Alzheimer's?" *The Scientist* (2011) 25, 36-40.
37. Gwin, E. *et al.*, "Cromolyn sodium in the treatment of asthma associated with aspirin hypersensitivity and nasal polyps" *Chest* (1977) 72, 148-153.
38. Haass, C. and Selkoe, D. J., "Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid β -peptide". *Nature Reviews Mol. Cell Biol.* (2007) 8, 101-112.
39. Hashimoto, T. *et al.*, "Apolipoprotein E, especially Apolipoprotein E4, Increases the Oligomerization of amyloid beta Peptide", *J. Neurosci.* (2012) 32, 15181-15192.
40. Heneka, M. *et al.*, "Acute treatment with the PPAR γ agonist pioglitazone and ibuprofen reduces glial inflammation and A β 1-42 levels in APPV717I transgenic mice". *Brain* (2005) 128, 1442-1453.
41. Hoozemans, J.J.M., *et al.*, "Soothing the Inflamed Brain: Effect of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs on Alzheimer's Disease Pathology". *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets* (2011) 10, 57-67.

42. Imbimbo, B. *et al.*, "Are NSAIDs useful to treat Alzheimer's disease or mild cognitive impairment" *Front. Aging Neurosci* (2010) 2 (artículo 19), 1-14.
- 5 43. Karran, E. *et al.*, "The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics" *Nature Reviews* (2011) 10, 698-712.
44. Keller, M. and Shierholz, J. "Have inadequate delivery systems hampered the clinical success of inhaled disodium cromoglycate? Time for reconsideration" (2011) 8, 1-17.
- 10 45. Knowles, J., "Donepezil in Alzheimer's disease: an evidence-based review of its impact on clinical and economic outcomes". *Core Evidence* (2006) 1, 195-219.
46. Kohman, R.A. and Rhodes, J.S., "Neurogenesis, inflammation and behavior". *Brain, Behavior, and Immunity* (2013) 27: 22-32.
- 15 47. Kotilinek, L. *et al.*, "Cyclooxygenase-2 inhibition improves amyloid- β -mediated suppression of memory and synaptic plasticity". *Brain* (2008) 131: 651-664.
48. Krstic, D. and Knuesel, I., "Deciphering the mechanism underlying late-onset Alzheimer disease", *Nature Reviews Neurology*, (2012): 1-10.
- 20 49. Mackenzie, I.R. and Munoz, D.G., "Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and Alzheimer-type pathology in aging". *Neurology* (1998) 50, 986-990.
- 25 50. Neale, M.G. *et al.*, "The pharmacokinetics of sodium cromoglycate in man after intravenous and inhalation administration". *Br. J. Clin. Pharmacol.* (1986) 22: 373-382.
- 30 51. Parepally, J.M.R. *et al.*, "Brain Uptake of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Ibuprofen, Flurbiprofen, and Indomethacin" *Pharm. Research* (2006) 23, 873-881.
52. Pehourcq, F. *et al.*, "Diffusion of arylpropionate non-steroidal anti-inflammatory drugs into the cerebrospinal fluid: a quantitative structure-activity relationship approach" *Fundamental Clin. Pharmacol.* (2004) 18, 65-70.
- 35 53. Petersen, R.C. *et al.*, "Vitamin E and Donepezil for the Treatment of Mild Cognitive Impairment" *N. Engl. J. Med.* (2005) 352, 1-10.
54. Schneider, L.S. and Sano, M., "Current Alzheimer's disease clinical trials: Methods and placebo outcomes" *Alz & Dementia* (2009) 5, 388-397.
- 40 55. Thal, L.J. *et al.*, "A Randomized, Double-Blind, Study of Rofecoxib in Patients with Mild Cognitive Impairment" *Neuropsychopharmacology* (2005) 30, 1204-1215.
- 45 56. Tronde, A. *et al.*, "Pulmonary Absorption Rate and Bioavailability of Drugs In Vivo in Rats: Structure-Absorption Relationships and Physicochemical Profiling of Inhaled Drugs" *J. Pharm. Sci.* (2003) 92, 1216-1233.
57. Veld, B. *et al.*, "Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs and the Risk of Alzheimer's Disease". *N. Engl. J. Med* (2001) 345, 1515-1521.
- 50 58. Weggen, S. *et al.*, "A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Abeta42 independently of cyclooxygenase activity". *Nature* (2001) 414, 212-216.
- 55 59. Yan, Q., *et al.*, "Anti-Inflammatory Drug Therapy Alters β -Amyloid Processing and Deposition in an Animal Model of Alzheimer's Disease" *J. Neurosci.* (2003) 23, 7504-7509.
- 60 60. Zlokovic, B., "Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders". *Nature Reviews Neurosci.* (2011) 12, 723-738.
61. Ono M, Hayashi S, Kimura H, Kawashima H, Nakayama M, Saji H., " Push-pull benzothiazole derivatives as probes for detecting beta-amyloid plaques in Alzheimer's brains". *Bioorg Med Chem.* 2009 Oct 1;17(19):7002-7. doi: 10.1016/j.bmc.2009.08.032. Epub 2009 Aug 20.
- 65 62. McLaurin J, Kierstead ME, Brown ME, Hawkes CA, Lambermon MH, *et al.* *Nat Med.* 2006 Jul;12(7):801-8.

63. Sun Y, Zhang G, Hawkes CA, Shaw JE, McLaurin J, Nitz M. *Bioorg Med Chem.* 2008;16(15):7177-7184.

64. Wettstein A, Spiegel R. *Psychopharmacology* 1985, 84:572-3.

5 65. Mash DC, Flynn DD, Potter LT. *Science*, 1985, 228(4703): 1115-7.

66. Palacios, J.M., Bolliger, G., Closse, A., Enz, A., Gmelin, G. & Molanowski, J. (1986). "The pharmacological assessment of RS-86 (2-ethyl 8-methyl-2,8-diazaspiro-[4,5]-decan-1,3-dion hydrobromide). Apotent, specific muscarinic acetylcholine receptor agonist". *Eur. J. Pharmacol.*, 125, 45-62.

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Combinación farmacéutica que comprende un primer compuesto y un segundo compuesto para su uso en disminuir la progresión de o en el tratamiento de una enfermedad o un estado seleccionado de enfermedad de Alzheimer, demencia, un estado asociado a la amiloidosis y una lesión en la cabeza, en la que el primer compuesto es cromolina o una sal de la misma y se formula para inhalación como un polvo seco de menos de 3 micrómetros de tamaño de partícula; y el segundo compuesto es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE).
- 10 2. Combinación farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, en la que el compuesto antiinflamatorio no esteroideo se selecciona del grupo que consiste en ácido acetilsalicílico, diflunisal, salsalato, ibuprofeno, dexibuprofeno, naproxeno, fenoprofeno, ketoprofeno, dexketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprozina, loxoprofeno, indometacina, tolmetina, sulindaco, etodolaco, ceterolaco, diclofenaco, nabumetona, piroxicam, meloxicam, tenoxicam, droxicam, lornoxicam, isoxicam, ácido mefenámico, ácido meclofenámico, ácido flufenámico, ácido tolfenámico, celecoxib, licofelona, hiperforina y escrofularia.
- 15 3. Combinación farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el primer compuesto es cromolina de sodio.
- 20 4. Combinación farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el segundo compuesto es ibuprofeno.
- 25 5. Combinación farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el primer compuesto es cromolina de sodio y el segundo compuesto es ibuprofeno.
- 30 6. Combinación farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el polvo seco tiene un tamaño de partícula desde aproximadamente 0,5 micrómetros hasta aproximadamente 1,5 micrómetros.
- 35 7. Combinación farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la enfermedad o el estado es enfermedad de Alzheimer.
8. Combinación farmacéutica para su uso según la reivindicación 5, en la que el ibuprofeno está en forma de un comprimido.

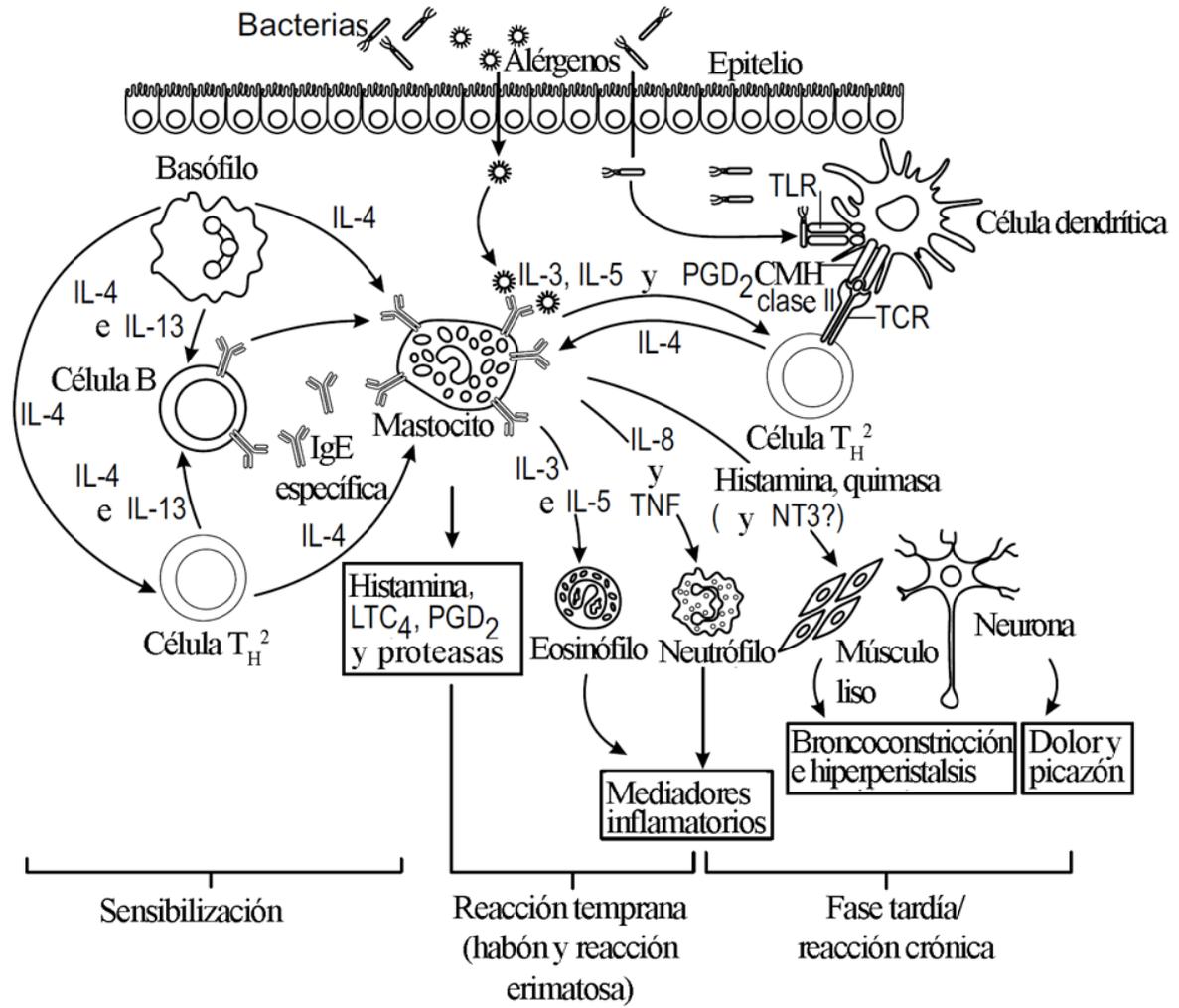


FIG. 1

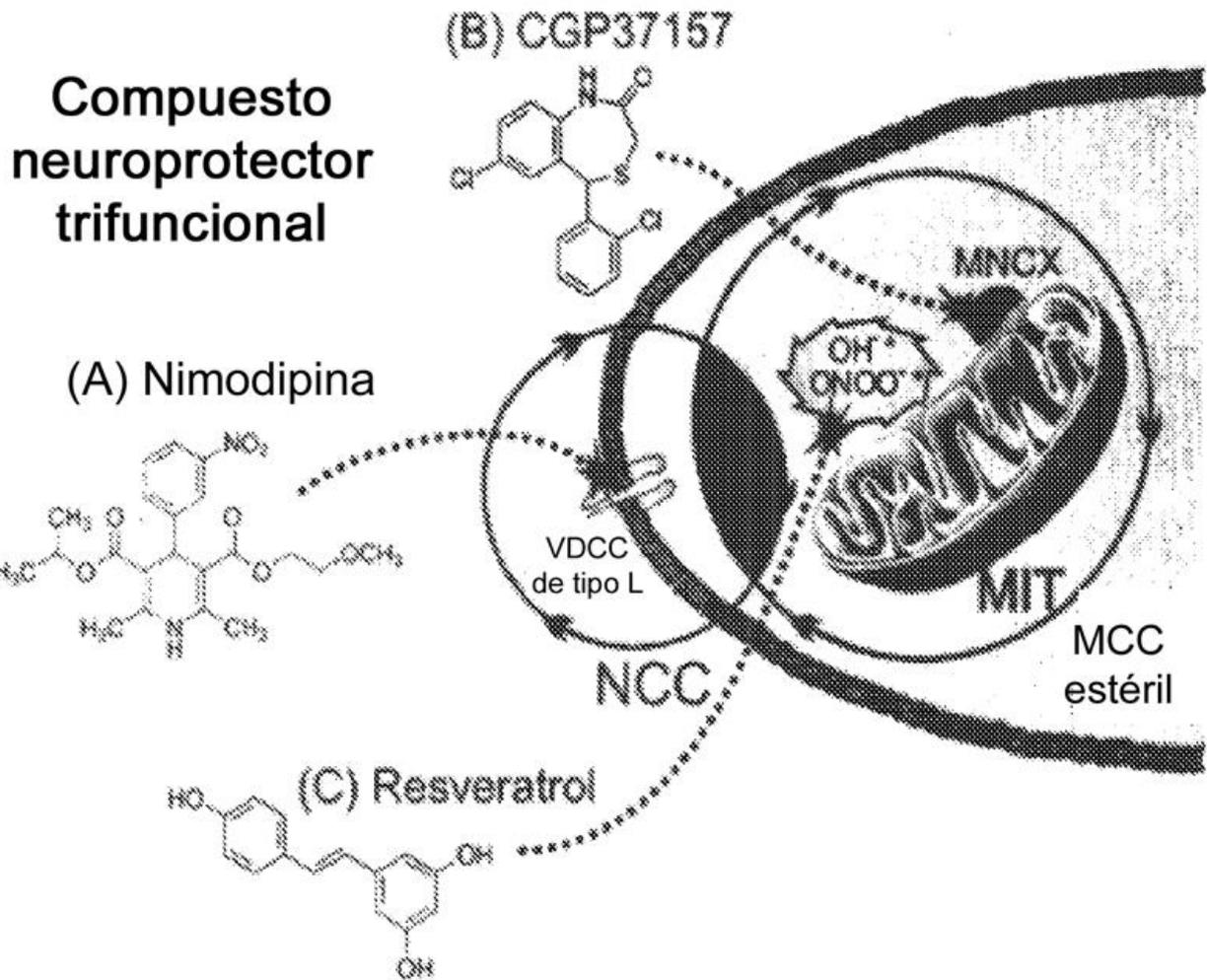


Figura 2

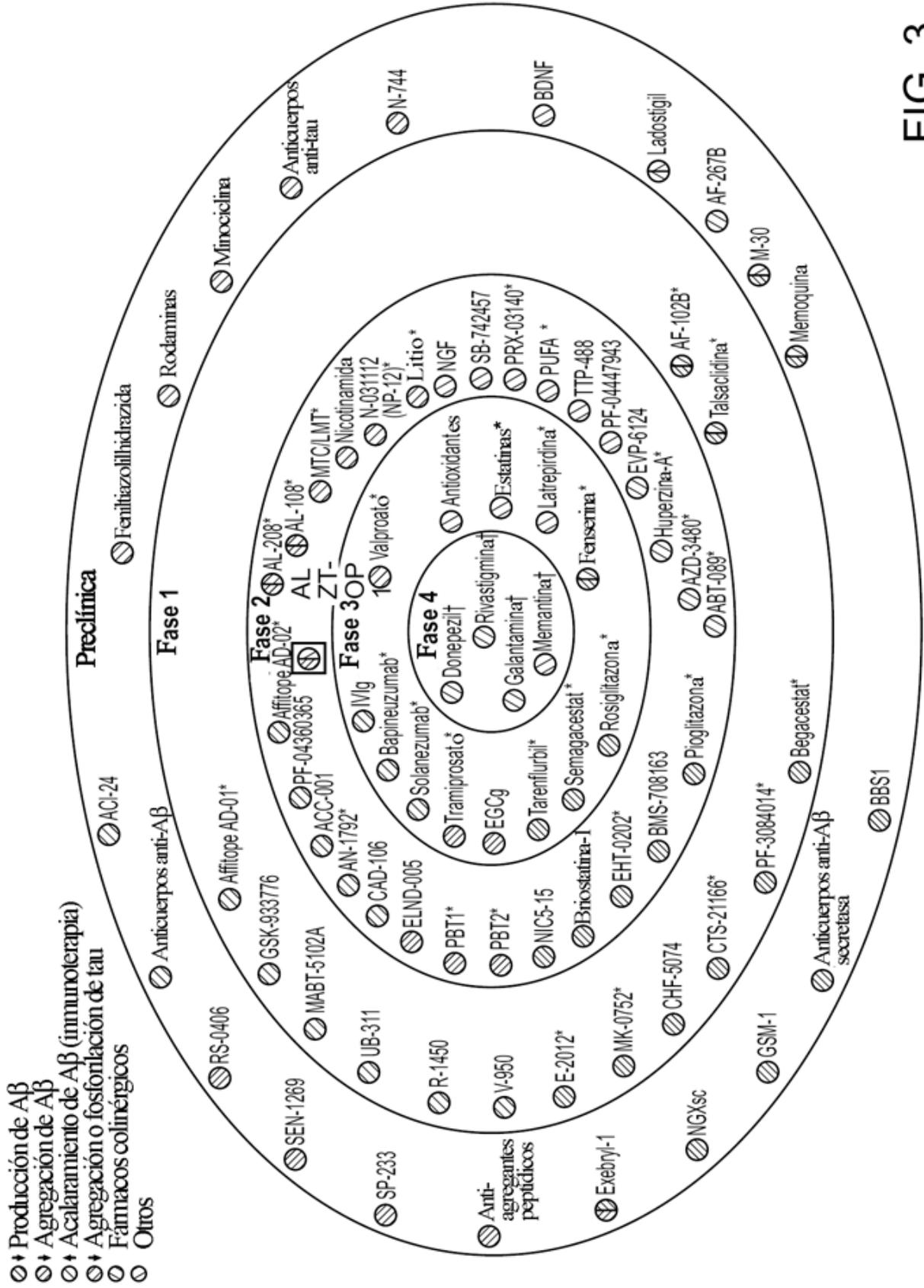


FIG. 3

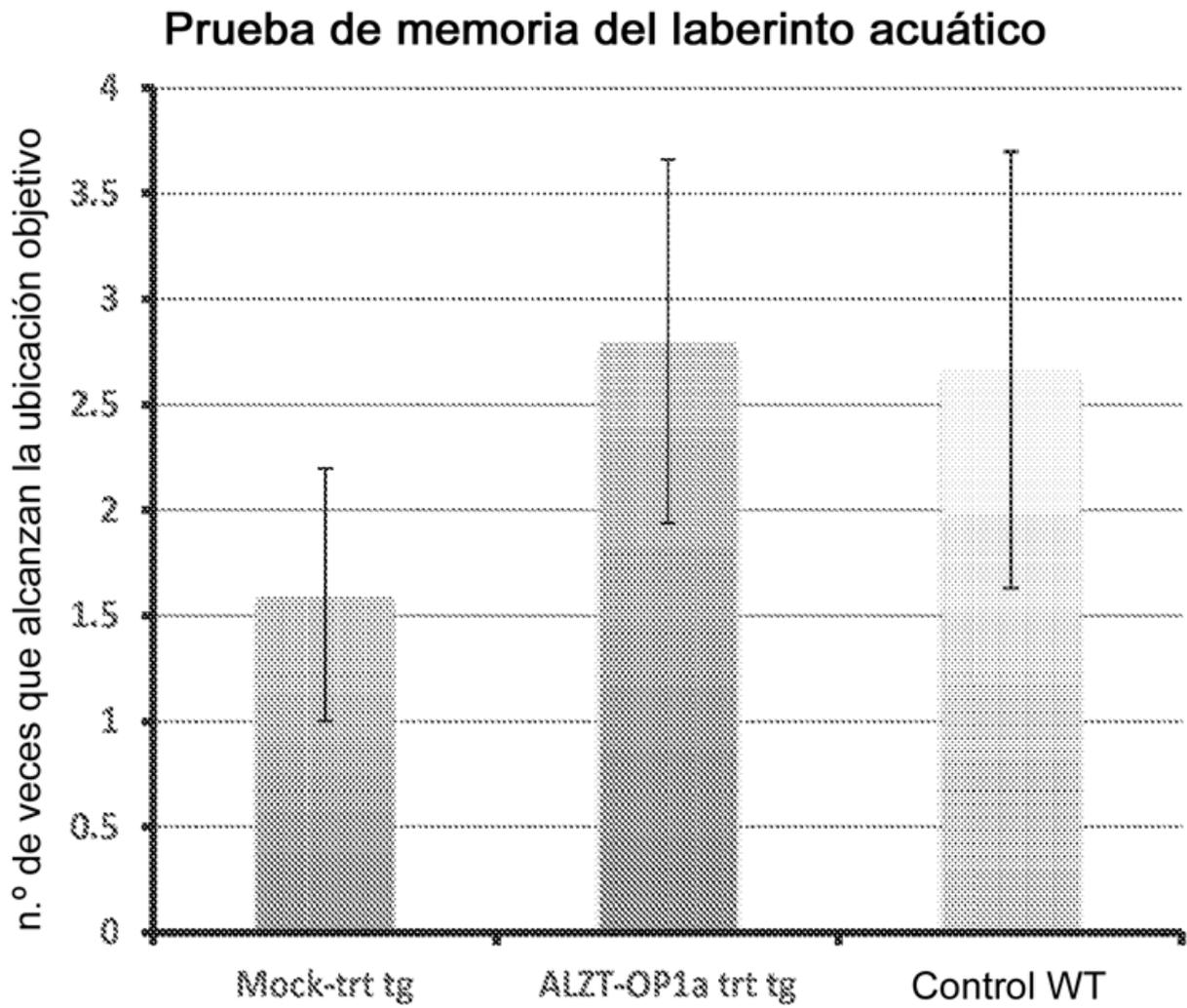


Figura 4

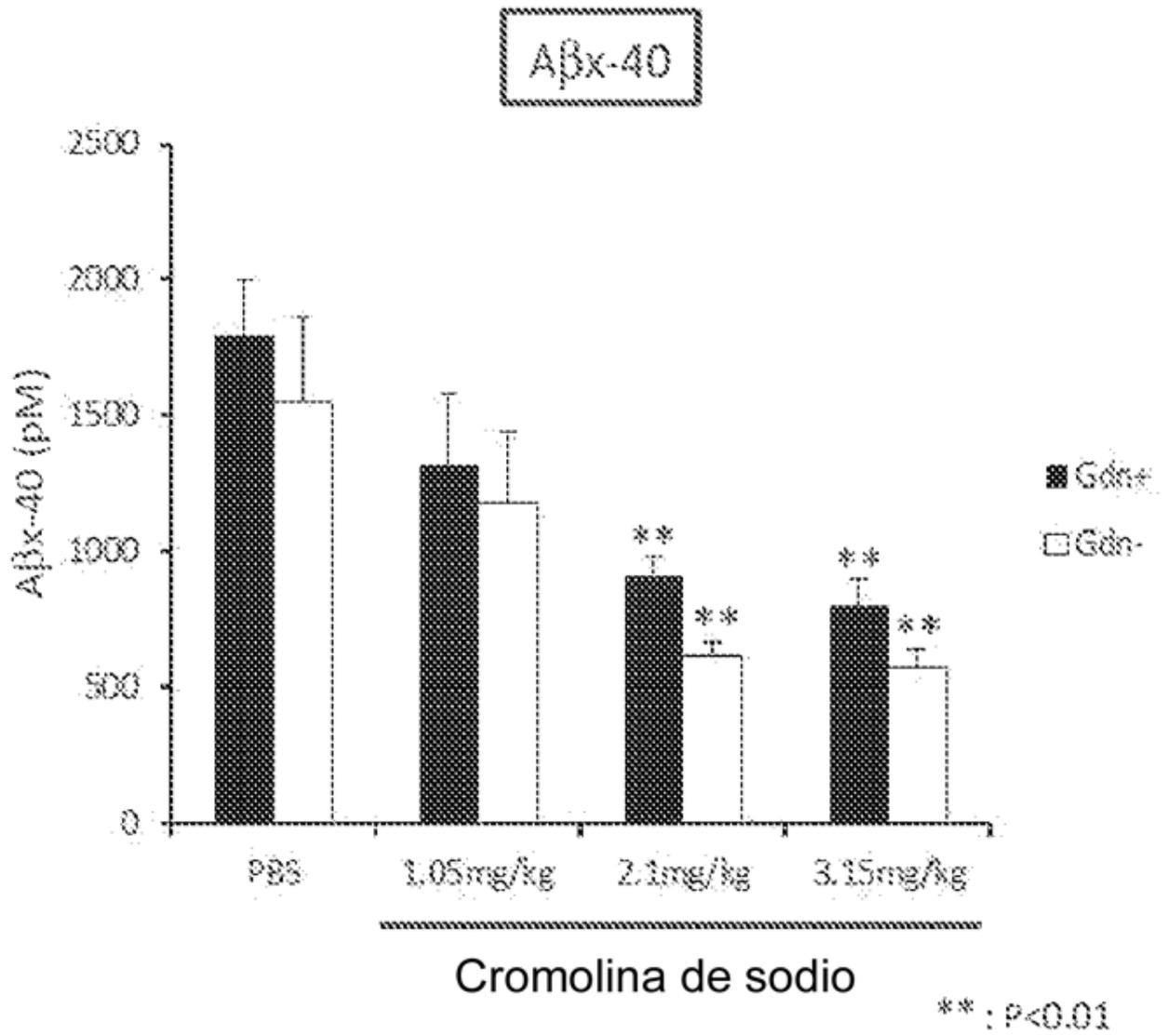


Figura 5A

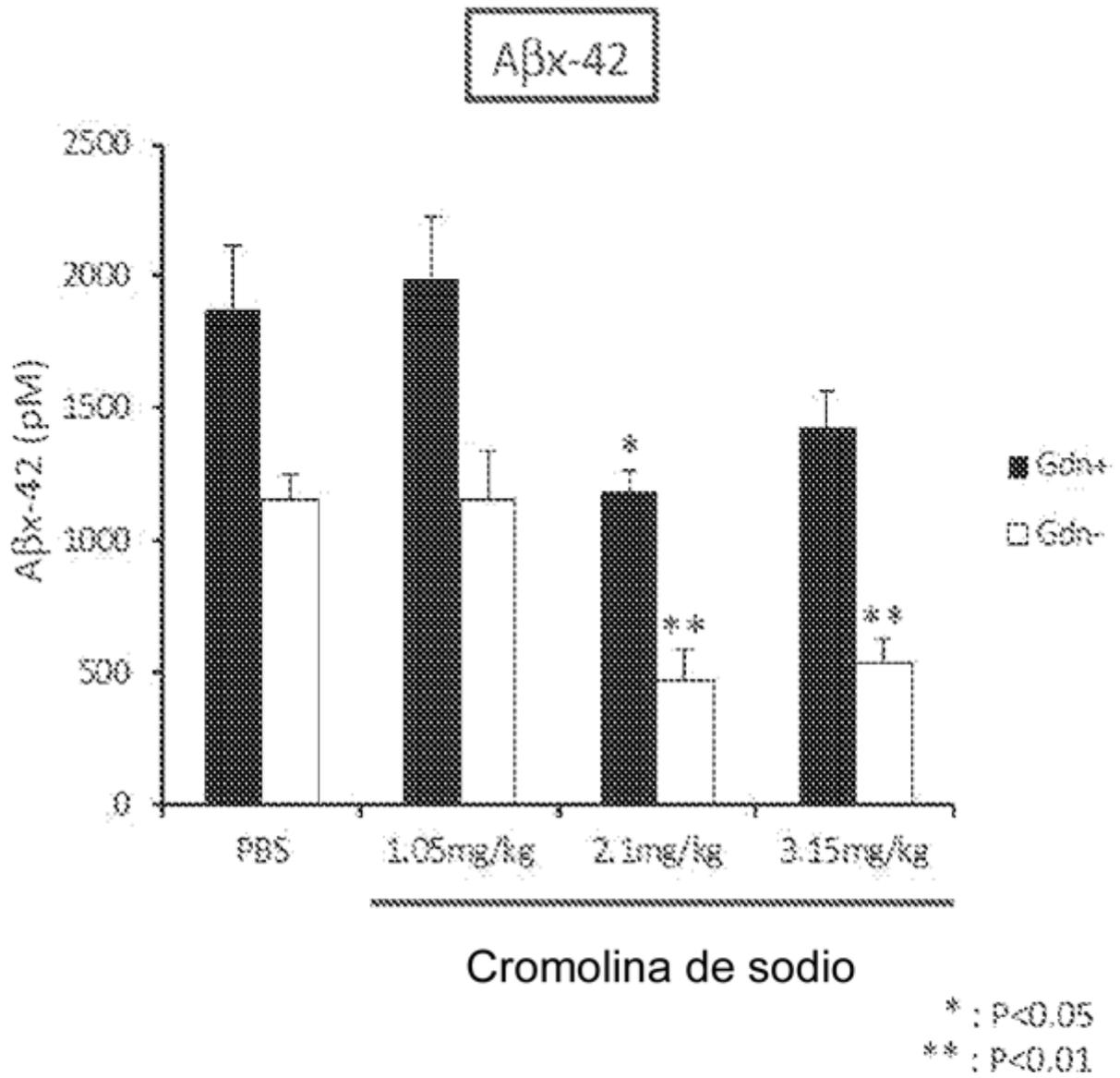


Figura 5B

ELISA de oligómeros A β IBL (82E1-82E1)

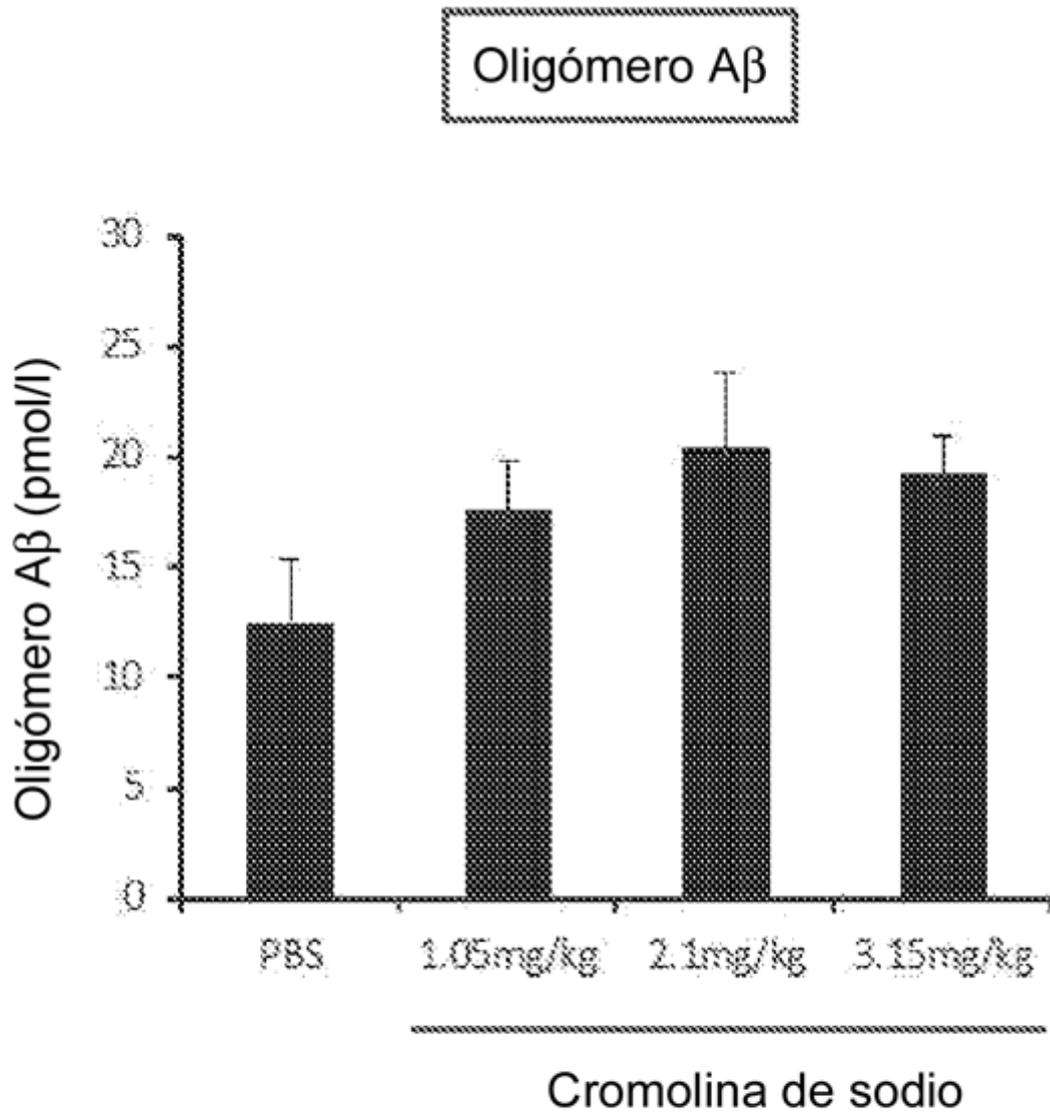


Figura 6A

La diferencia entre con y sin Gdn
usando ELISA WAKO de A β

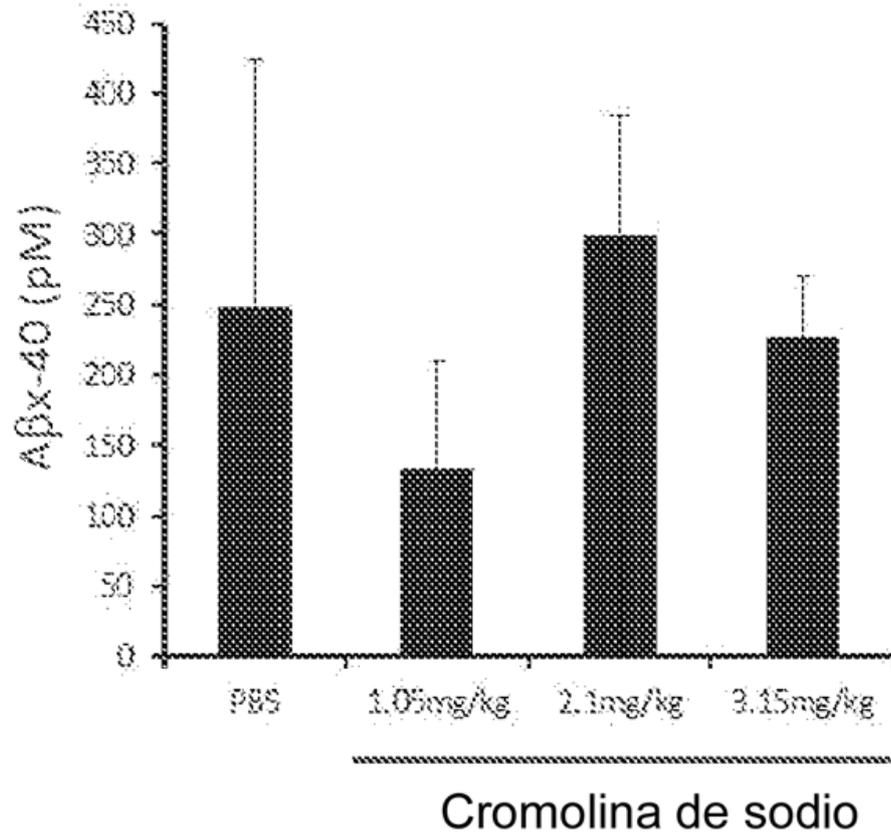


Figura 6B

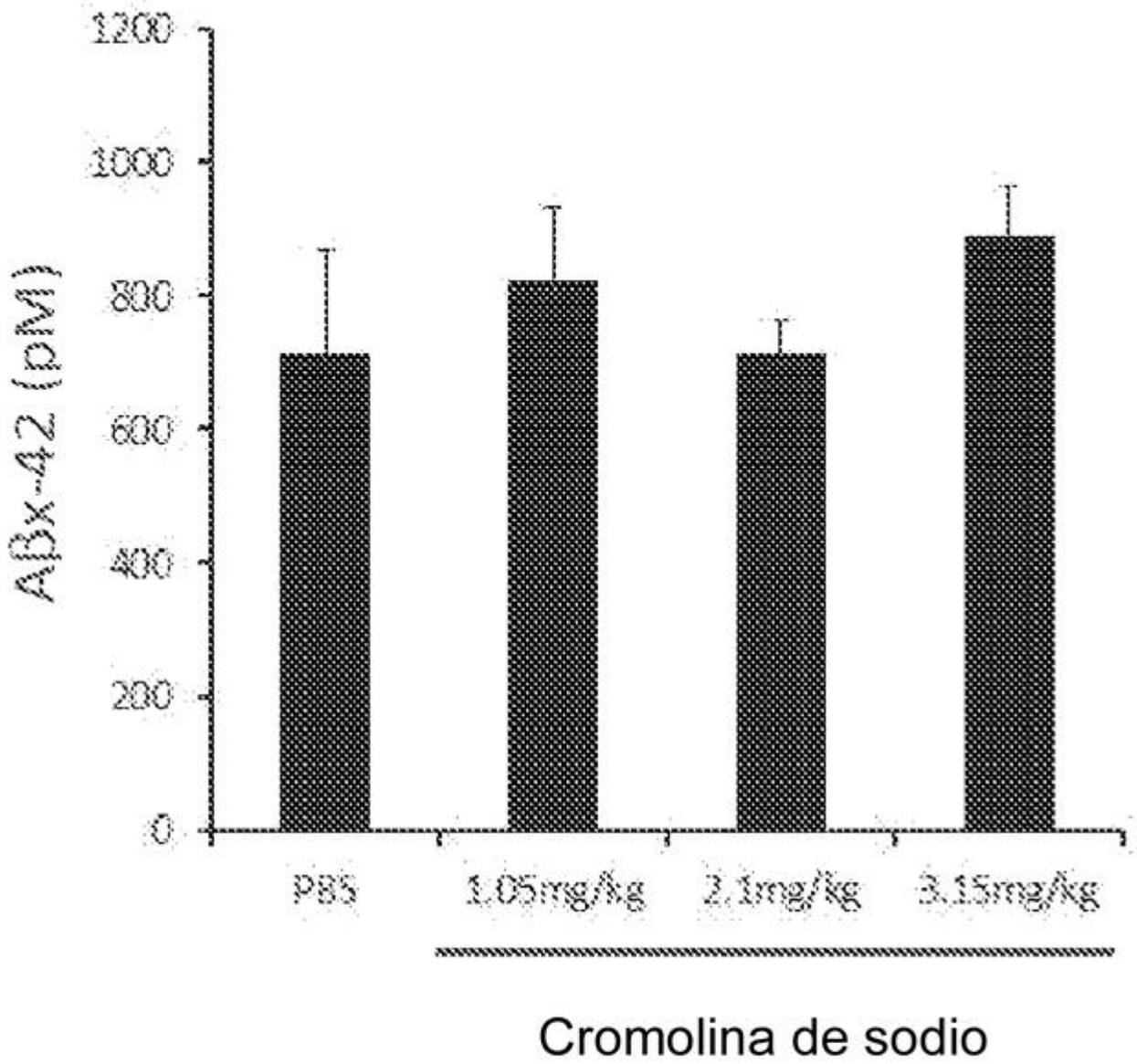


Figura 6C

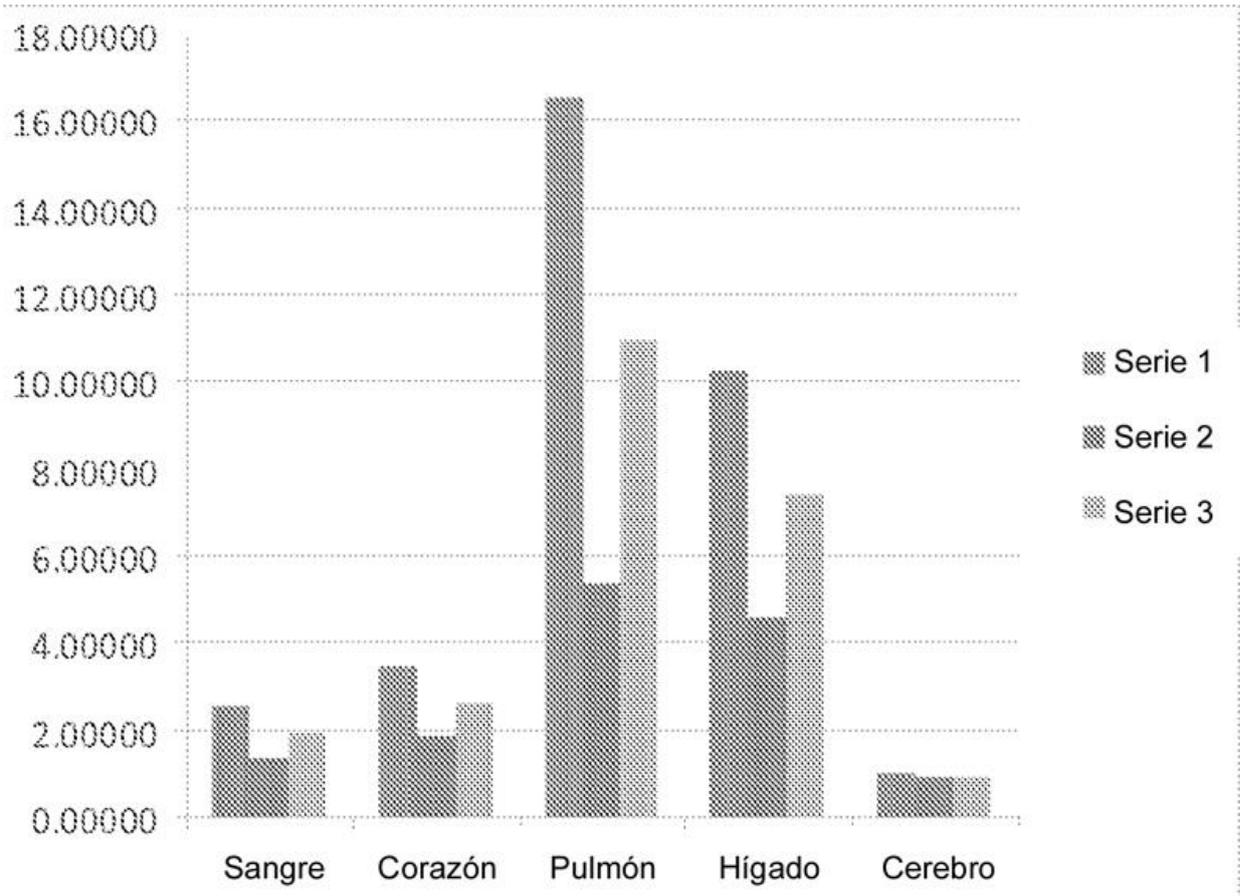


Figura 7

Prueba de agregación de A β
Ensayada para la cinética de la intensidad de fluorescencia de tioflavina T

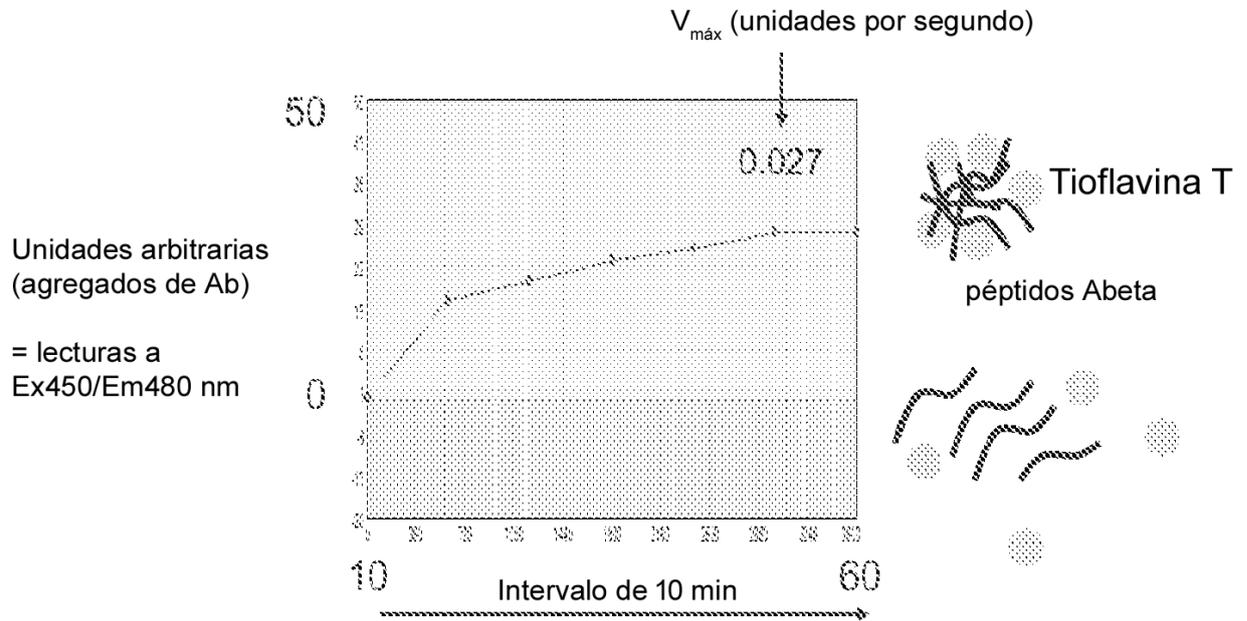


Figura 8

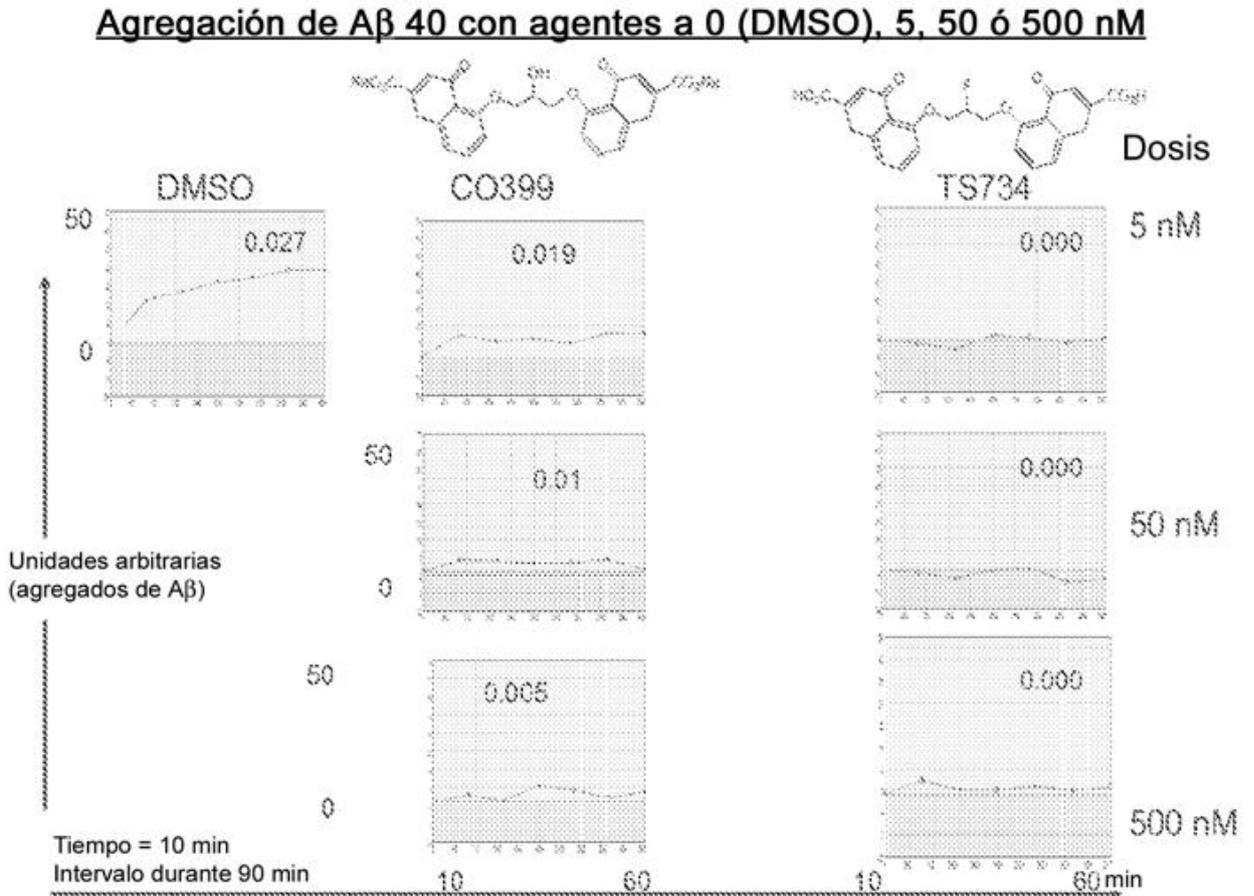


Figura 9

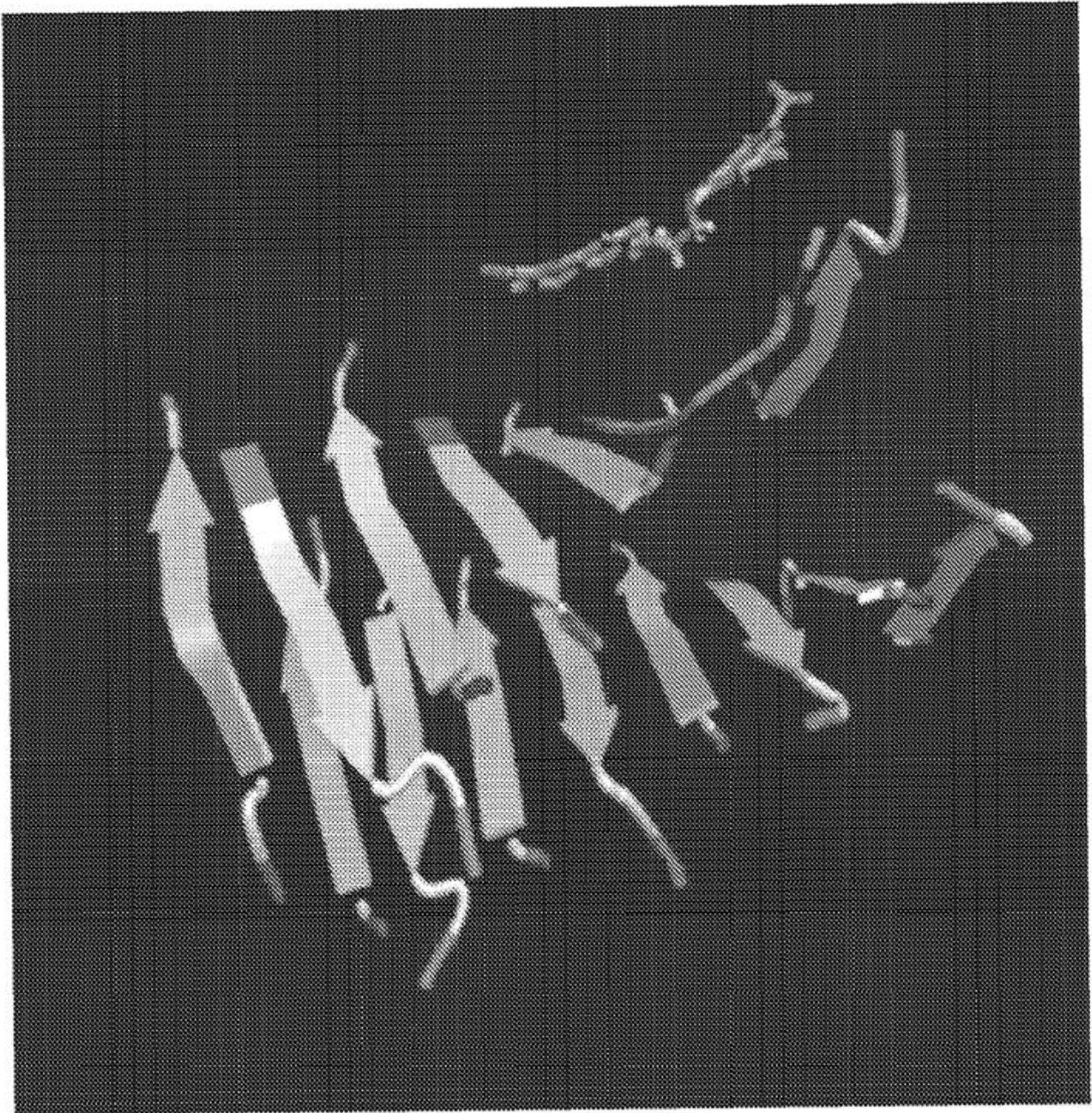


Figura 10

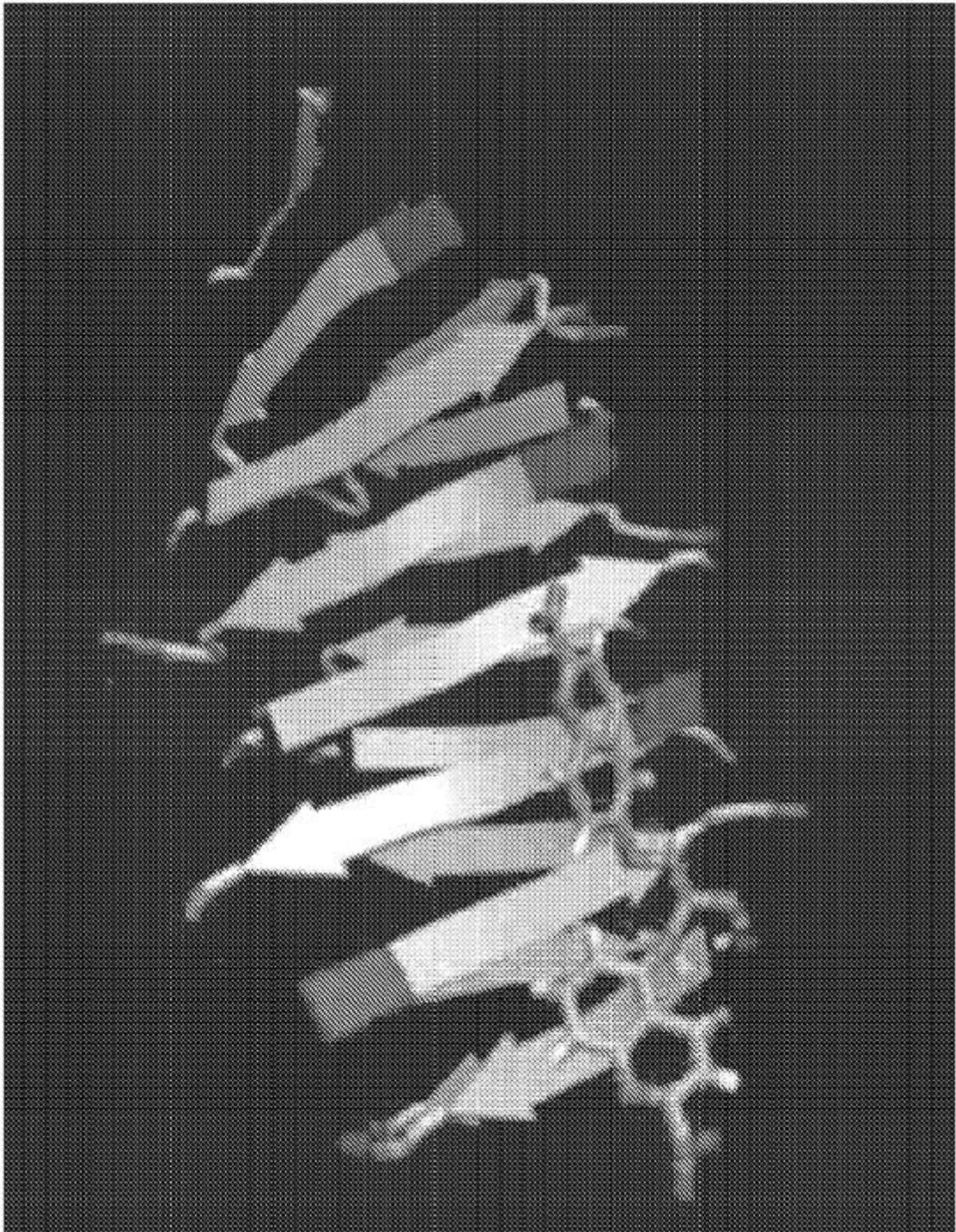


Figura 11