

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 810 983**

51 Int. Cl.:

A61K 31/27 (2006.01)

A61K 31/445 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.08.2017 PCT/IB2017/054938**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.02.2018 WO18033847**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.08.2017 E 17768234 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2020 EP 3500253**

54 Título: **Combinación de agonistas inversos del receptor de histamina-3 con inhibidores de acetilcolinesterasa**

30 Prioridad:

18.08.2016 IN 201641028166

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

10.03.2021

73 Titular/es:

**SUVEN LIFE SCIENCES LIMITED (100.0%)
5th Floor Serene Chambers, Road No. 5, Off
Avenue 7, Banjara Hills
Hyderabad, Telangana 500034, IN**

72 Inventor/es:

**NIROGI, RAMAKRISHNA;
SHINDE, ANIL KARBHARI;
MOHAMMED, ABDUL RASHEED;
JAYARAJAN, PRADEEP;
BHYRAPUNENI, GOPINADH y
JASTI, VENKATESWARLU**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 810 983 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

Combinación de agonistas inversos del receptor de histamina-3 con inhibidores de acetilcolinesterasa

5 Campo de la invención

La presente descripción se refiere a los agonistas inversos del receptor de histamina-3 (H₃R) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos en combinación con o como coadyuvante de los inhibidores de la acetilcolinesterasa. La presente descripción se refiere además al uso de la combinación y la composición farmacéutica que contiene dicha combinación en el tratamiento de trastornos cognitivos.

Antecedentes de la invención

15 La enfermedad de Alzheimer (AD) es la causa más común de demencia en todo el mundo. Se anticipa que, el aumento exponencial en el número de casos de AD en el pasado y las proyecciones futuras en las próximas décadas, resulte en gran presión sobre los sistemas sociales y de salud de las economías desarrolladas y en desarrollo por igual. La AD impone además una tremenda carga emocional y financiera para la familia y la comunidad del paciente.

20 La lista actual de fármacos aprobados para mejorar la cognición para la AD no es larga e históricamente se ha centrado en los inhibidores de la acetilcolinesterasa (donepezilo, rivastigmina y galantamina). Estos fármacos actúan por inhibición de la hidrólisis de la acetilcolina (ACh) en acetato y colina mediante orientación a la enzima acetilcolinesterasa (AChE). El aumento de los niveles de ACh en la sinapsis puede estimular los receptores colinérgicos y promover la función de la memoria. Aunque los inhibidores de acetilcolinesterasa (AChEI) pueden retrasar temporalmente la progresión del deterioro cognitivo en la AD, sus efectos son modestos. Al estar presentes tanto en el sistema nervioso central como en el periférico, los AChEI producen varios efectos secundarios indeseables, tales como trastornos gastrointestinales, bradicardia y salivación excesiva, que se asocian con una acción sobre los receptores colinérgicos muscarínicos periféricos (Expert Opinion on Drug Safety, 3, 2004, 425-440). La limitación de la clase de fármacos inhibidores de la AChE es que son poco tolerados, su eficacia no es sostenida y requieren una titulación de dosis constante a medida que la enfermedad progresa (Cochrane Database Systematic Reviews, 2006, CD005593) que conducen a un incumplimiento significativo del paciente. La incidencia y la gravedad de estos efectos secundarios aumentan con la cantidad de la dosis y, en general, son más pronunciadas al inicio del tratamiento o después del aumento de la dosis. Por lo tanto, existe una necesidad insatisfecha de terapia alternativa para tratar los trastornos cognitivos.

35 El H₃R es un receptor acoplado a proteínas G (GPCR), que se expresa principalmente en la parte anterior de la corteza, el hipocampo y el cuerpo estriado. Los H₃R funcionan como autoreceptores y heteroreceptores. Modula la síntesis y la liberación de varios neurotransmisores que desempeñan un papel importante en la cognición, el estado de ánimo y la activación sensorial. Los informes preliminares de la literatura sugieren que los antagonistas/agonistas inversos de H₃R pueden tener una utilidad prometedora para el tratamiento de diversos trastornos del CNS, que incluyen AD, esquizofrenia, trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), epilepsia, narcolepsia, dolor neuropático y trastornos metabólicos. Se ha demostrado que el antagonismo de este receptor por varios compuestos en investigación mejora el aprendizaje y la memoria en modelos animales.

45 Las solicitudes de patente, WO2015032966, WO2014136075 y US20150080379 describen la combinación de antagonistas de H₃R e inhibidores de la acetilcolinesterasa para el tratamiento de la AD. Adicionalmente Khan Nadia y otros: "The dual-acting H3 receptor antagonist and AChE inhibitor UW-MD-71 dose-dependently enhances memory retrieval and reverses dizocilpine-induced memory impairment in rats" Behavioural Brain Research. Vol 297, 20 octubre de 2015 (2015-10-20), Págs. 155-164, XP029331734, ISSN: 0166-4328 DOI: 10.1016/j.bbr.2015.10.022. Sin embargo, ninguna de estas combinaciones está aprobada para el tratamiento de la AD.

50 Como el tratamiento de la AD es de naturaleza crónica, existe una necesidad médica insatisfecha desesperada de opciones de tratamiento mejores y más seguras. El tratamiento aprobado actualmente para AD incluye el uso de antagonista de AChEI o NMDA solos o la combinación de antagonista de AChEI y NMDA. Sin embargo, aún existe la necesidad de nueva combinación/nuevos fármacos para tratar a los pacientes con AD. Una estrategia terapéutica que se busca con empeño para los pacientes con AD es orientar a una mejora con un complemento de las terapias existentes que brindaría un alivio adicional para los pacientes, reduciría la carga del cuidador y permitiría al paciente disfrutar de una mejor calidad de vida sin la necesidad de atención institucional y/u hospitalización.

60 Dado que la causa y el desarrollo de la demencia dependen de los diferentes mecanismos, puede ser una ventaja usar la combinación de fármacos que funcionen en diferentes mecanismos para el tratamiento de la AD. Esto a su vez puede ayudar a reducir los efectos secundarios con un mejor cumplimiento del paciente y, por lo tanto, puede administrarse durante un largo período.

65 Los compuestos de la presente descripción son agonistas inversos del H₃R con alta afinidad y muy alta selectividad sobre subtipos de receptores estrechamente relacionados y mejoran el aprendizaje y la memoria en animales. Los compuestos agonistas inversos de H₃R mencionados aquí se describen en los documentos US9079888B2 (publicado como US2014/135304). La preparación de estos compuestos se proporciona en dicha patente.

- La descripción instantánea proporciona el agonista inverso de H₃R o la(s) sal(es) farmacéuticamente aceptable(s) del mismo, que pueden mejorar la función cognitiva de los pacientes en tratamiento con inhibidores de la acetilcolinesterasa. La presente descripción se basa en el hallazgo de que los compuestos instantáneos con agonistas inversos del H₃R, aumentan la afinidad y además prolongan el efecto de los inhibidores de la acetilcolinesterasa. La combinación de la presente invención demuestra un efecto sinérgico en su actividad farmacológica. Tal administración combinada de agonista inverso del H₃R y el inhibidor de la acetilcolinesterasa puede resultar en un efecto beneficioso para mejorar la eficacia terapéutica en seres humanos.
- 5
- 10 Resumen de la invención
- El objetivo de la presente descripción es proporcionar una terapia combinada mejorada para el tratamiento de trastornos cognitivos, tales como la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia frontotemporal, síndrome de Down o síndrome de Tourette.
- 15
- En el primer aspecto, la presente descripción se refiere a una combinación de agonista inverso del receptor de histamina-3 e inhibidor de acetilcolinesterasa; en donde el agonista inverso del receptor de histamina-3 se selecciona de:
N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida;
N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida; y
20 N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida;
o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.
- En otro aspecto, la presente descripción se refiere a una combinación de agonista inverso del receptor de histamina-3 e inhibidor de acetilcolinesterasa; en donde el agonista inverso del receptor de histamina-3 es N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.
- 25
- En otro aspecto, la presente descripción se refiere a una combinación de agonista inverso del receptor de histamina-3 e inhibidor de acetilcolinesterasa; en donde el agonista inverso del receptor de histamina-3 es N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.
- 30
- En otro aspecto, la presente descripción se refiere a una combinación de agonista inverso del receptor de histamina-3 e inhibidor de acetilcolinesterasa; en donde el agonista inverso del receptor de histamina-3 es N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.
- 35
- En otro aspecto, la presente descripción se refiere a una combinación de agonista inverso del receptor de histamina-3 e inhibidor de acetilcolinesterasa; en donde el inhibidor de acetilcolinesterasa se selecciona de donepezilo, galantamina y rivastigmina o una sal farmacéuticamente aceptable de este.
- 40
- En otro aspecto más, la presente descripción se refiere a una combinación de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.
- En otro aspecto más, la presente descripción se refiere a una combinación de N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.
- 45
- Aún en otro aspecto, la presente descripción se refiere a una combinación de N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.
- En otro aspecto más, la presente descripción se refiere a dicha combinación para su uso en el tratamiento de trastornos cognitivos.
- 50
- En otro aspecto más, la presente descripción se refiere a dicha combinación para su uso en el tratamiento de trastornos cognitivos, tales como la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia frontotemporal, síndrome de Down o síndrome de Tourette.
- 55
- En otro aspecto más, la presente descripción se refiere al agonista inverso del receptor de histamina-3 para su uso en el tratamiento complementario de trastornos cognitivos, tales como la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia frontotemporal, síndrome de Down o síndrome de Tourette, en pacientes en tratamiento con inhibidor de acetilcolinesterasa.
- 60
- En otro aspecto más, la presente descripción se refiere al compuesto, N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta para su uso en el tratamiento complementario de trastornos cognitivos como la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia frontotemporal, síndrome de Down o síndrome de Tourette en pacientes en tratamiento con donepezilo.
- 65

5 En otro aspecto más, la presente descripción se refiere al compuesto, N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, para su uso en combinación con o complementario a, un inhibidor de acetilcolinesterasa, para el tratamiento de trastornos cognitivos como la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia frontotemporal, síndrome de Down o síndrome de Tourette.

10 En otro aspecto más, la presente descripción se refiere al agonista inverso del receptor de histamina-3 y el inhibidor de acetilcolinesterasa para el tratamiento de trastornos cognitivos, tales como la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia frontotemporal, síndrome de Down o síndrome de Tourette.

15 En otro aspecto más, la presente descripción se refiere al compuesto, N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este para su uso en el tratamiento de trastornos cognitivos como la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia frontotemporal, síndrome de Down o síndrome de Tourette.

20 En otro aspecto, la presente descripción se refiere a una composición farmacéutica que comprende el agonista inverso del receptor de histamina-3 y el inhibidor de acetilcolinesterasa y excipientes farmacéuticamente aceptables o una combinación de estos.

En otro aspecto más, la presente descripción se refiere a una composición farmacéutica que comprende N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y excipientes farmacéuticamente aceptables o una combinación de estos.

25 En otro aspecto, la presente descripción se refiere a la composición farmacéutica que comprende el agonista inverso del receptor de histamina-3 y el inhibidor de acetilcolinesterasa o una sal farmacéuticamente aceptable de este, junto con excipientes farmacéuticamente aceptables o una combinación de estos, para su uso en el tratamiento de trastornos cognitivos, tales como la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia frontotemporal, síndrome de Down o síndrome de Tourette.

30 Breve descripción de los diagramas

35 La Figura 1a representa los resultados del efecto de un tratamiento conjunto del compuesto 1 con donepezilo sobre las propiedades de mejora de la cognición mediante el uso del modelo de tarea de reconocimiento de objetos.

La Figura 1b representa los resultados del efecto de un tratamiento conjunto del compuesto 1 con galantamina sobre las propiedades de mejora de la cognición mediante el uso del modelo de tarea de reconocimiento de objetos.

40 La Figura 1c representa los resultados del efecto de un tratamiento conjunto del compuesto 1 con rivastigmina sobre las propiedades de mejora de la cognición mediante el uso del modelo de tarea de reconocimiento de objetos.

La Figura 2 representa los resultados del efecto de un tratamiento conjunto del compuesto 3 con donepezilo sobre las propiedades de mejora de la cognición mediante el uso del modelo de tarea de reconocimiento de objetos.

45 La Figura 3 representa el efecto del compuesto 1 en combinación con donepezilo sobre los niveles extracelulares de acetilcolina en la corteza prefrontal medial de ratas Wistar macho.

50 La Figura 4 representa el efecto del compuesto 1 en combinación con rivastigmina sobre los niveles extracelulares de acetilcolina en la corteza prefrontal medial de ratas Wistar macho.

La Figura 5 representa el efecto del compuesto 2 en combinación con donepezilo sobre los niveles extracelulares de acetilcolina en la corteza prefrontal medial de ratas Wistar macho.

55 La Figura 6 representa el efecto del compuesto 3 en combinación con donepezilo sobre los niveles extracelulares de acetilcolina en la corteza prefrontal medial de ratas Wistar macho.

La Figura 7 representa los resultados del efecto de la combinación de compuesto 1 y donepezilo en la estimulación de los niveles de theta evocados en el hipocampo dorsal de ratas Wistar machos anestesiadas.

60 Descripción detallada

A menos que se indique de cualquier otra manera, los siguientes términos que se usan en la descripción y en las reivindicaciones tienen los significados que se exponen más abajo:

65 El término "agonista inverso del receptor de histamina-3", como se usa en la presente descripción, se refiere a un ligando o fármaco que se une con receptores H₃ constitutivamente activos, los estabiliza, y por tanto reducen la actividad (actividad

intrínseca negativa). Este bloquea o inhibe la función/unión del agonista en el receptor H₃ y ejercen el efecto farmacológico opuesto de un agonista del receptor.

5 Los ejemplos del agonista inverso del receptor de histamina-3 incluyen,
 N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida;
 N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida; y
 N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida;
 o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

10 Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos identificados anteriormente incluyen, pero sin limitarse a,
 Diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida;
 Tartrato de N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida; y
 Tartrato de N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida.

15 El término "inhibidor de la acetilcolinesterasa", como se usa en la presente descripción, es un producto químico o fármaco que inhibe que la enzima acetilcolinesterasa descomponga la acetilcolina, lo que aumenta así el nivel y la duración de la acción del neurotransmisor acetilcolina. Los ejemplos de inhibidor de acetilcolinesterasa son donepezilo, rivastigmina y galantamina. Preferentemente, el inhibidor de acetilcolinesterasa es donepezilo y rivastigmina. Con mayor preferencia, el
 20 inhibidor de acetilcolinesterasa es donepezilo.

El donepezilo es un fármaco aprobado para el tratamiento de la demencia leve, moderada y grave de la enfermedad de Alzheimer. El donepezilo es un inhibidor reversible de la enzima acetilcolinesterasa y se vende con el nombre comercial Aricept® como sal de clorhidrato.

25 La rivastigmina es un fármaco aprobado para el tratamiento de la demencia leve, moderada y grave de la enfermedad de Alzheimer. La rivastigmina es un inhibidor reversible de la colinesterasa y se vende con el nombre comercial Exelon® y Exelon Patch® como sal de tartrato.

30 La galantamina es un fármaco aprobado para el tratamiento de la demencia leve, moderada y grave de la enfermedad de Alzheimer. La galantamina, un inhibidor reversible y competitivo de la acetilcolinesterasa, se vende bajo el nombre comercial de Razadyne® como sal de bromhidrato.

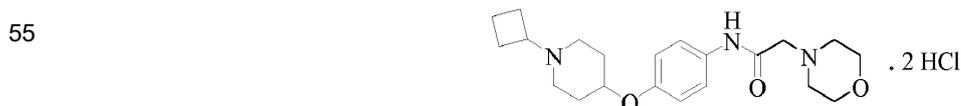
35 La frase "cantidad terapéuticamente eficaz" se define como una cantidad de un compuesto de la presente descripción que (i) trata la enfermedad, afección o trastorno particular (ii) elimina uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular (iii) retrasa la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad, condición o trastorno particular descritos en la presente descripción.

40 El término "sal farmacéuticamente aceptable" como se usa en la presente descripción se refiere a sales del compuesto activo y se preparan por reacción con el ácido o derivado de ácido orgánico o inorgánico apropiado, en dependencia de los sustituyentes particulares encontrados en los compuestos descritos en la presente descripción.

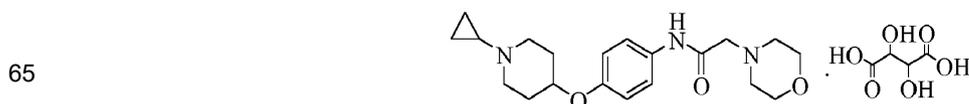
45 El término "paciente", como se usa en la presente descripción, se refiere a un animal. Preferentemente, el término "paciente" se refiere a mamífero. El término mamífero incluye animales como ratones, ratas, perros, conejos, cerdos, monos, caballos y seres humanos. Preferentemente, el paciente es un ser humano.

50 El término "enfermedad de Alzheimer", como se usa en la presente descripción, se refiere a una demencia que causa problemas con la memoria, el pensamiento y el comportamiento. La enfermedad de Alzheimer puede ser de leve a moderada a grave.

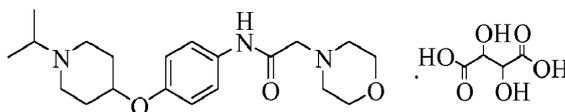
El compuesto 1 como se usa en la presente descripción es diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida que tiene la estructura química,



60 El compuesto 2 como se usa en la presente descripción es tartrato de N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida que tiene la estructura química,



El compuesto 3 como se usa en la presente descripción es N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida que tiene la estructura química,



5

10

El término "tratamiento" o "tratar" como se usa en la presente descripción se refiere a cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, que incluye: (a) retrasar o detener el desarrollo de síntomas clínicos; y/o (b) provocar la regresión de los síntomas clínicos.

15

El término "compuesto para su uso" como se usa en la presente descripción abarca uno o más de los siguientes: (1) uso de un compuesto, (3) uso en el tratamiento de, (4) uso para la fabricación de composición farmacéutica/fármaco para tratar/tratamiento o que comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto activo a un sujeto que lo necesite.

20

El término "trastorno cognitivo", como se usa en la presente descripción, se refiere a un grupo de trastornos de salud mental que afectan principalmente al aprendizaje, la memoria, la percepción y la resolución de problemas e incluye amnesia, demencia y delirio. Los trastornos cognitivos pueden resultar debido a una enfermedad, trastorno, dolencia o toxicidad. Los ejemplos de trastornos cognitivos incluyen, pero sin limitarse a, enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy (LBD), demencia vascular, demencia frontotemporal (FTD), síndrome de Down o síndrome de Tourette. Preferentemente, el trastorno cognitivo es la enfermedad de Alzheimer.

25

El término "complemento" o "tratamiento complementario", como se usa en la presente descripción, se refiere a un tratamiento adicional para un paciente que ya ha recibido al menos otra terapia para trastornos cognitivos. Un fármaco usado como terapia complementaria se administra a un paciente para que ese tratamiento primario funcione mejor.

30

Modalidades

La presente descripción abarca todas las combinaciones descritas en la presente sin limitación, sin embargo, los aspectos y elementos preferidos de la descripción se discuten en la presente en forma de las siguientes modalidades.

35

En una modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de agonista inverso del receptor de histamina-3 e inhibidor de acetilcolinesterasa; en donde el agonista inverso del receptor de histamina-3 es diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida.

40

En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de agonista inverso del receptor de histamina-3 e inhibidor de acetilcolinesterasa; en donde el agonista inverso del receptor de histamina-3 es tartrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida.

45

En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de agonista inverso del receptor de histamina-3 e inhibidor de acetilcolinesterasa; en donde el agonista inverso del receptor de histamina-3 es tartrato de N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida.

En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y rivastigmina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

50

En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y galantamina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

55

En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y rivastigmina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y galantamina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

60

En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y rivastigmina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y galantamina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

65

En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y clorhidrato de donepezilo.

- En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y tartrato de rivastigmina.
- 5 En otra modalidad, la presente invención se refiere a una combinación de diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y bromhidrato de galantamina.
- En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de tartrato de N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y clorhidrato de donepezilo.
- 10 En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de tartrato de N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y tartrato de rivastigmina.
- 15 En otra modalidad, la presente invención se refiere a una combinación de tartrato de N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y bromhidrato de galantamina.
- En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de tartrato de N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y clorhidrato de donepezilo.
- 20 En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de tartrato de N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y tartrato de rivastigmina.
- En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de tartrato de N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y bromhidrato de galantamina.
- 25 En otra modalidad, la presente descripción proporciona la combinación del agonista inverso del receptor de histamina-3 y el inhibidor de acetilcolinesterasa que es más eficaz que el agonista inverso del receptor de histamina-3 y el inhibidor de acetilcolinesterasa solos.
- 30 En otra modalidad, la presente descripción proporciona la combinación de diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y clorhidrato de donepezilo que es más eficaz que diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y clorhidrato de donepezilo solos.
- 35 En otra modalidad, la sal farmacéuticamente aceptable del agonista inverso del receptor de histamina-3 incluye, pero sin limitarse a, la sal de diclorhidrato, sal de oxalato, sal de succinato, sal de tartrato y similares. Preferentemente, la sal farmacéuticamente aceptable son las sales de diclorhidrato y de tartrato. Con mayor preferencia, la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de diclorhidrato.
- 40 En otra modalidad, la presente descripción se refiere a una combinación de diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y el inhibidor de la acetilcolinesterasa para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.
- 45 En otro aspecto más, la presente descripción se refiere a N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta para su uso en el tratamiento complementario de la enfermedad de Alzheimer en un paciente en tratamiento con inhibidor de acetilcolinesterasa.
- 50 En otro aspecto más, la presente descripción se refiere a N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta para su uso en el tratamiento complementario de la enfermedad de Alzheimer en un paciente en tratamiento con inhibidor de acetilcolinesterasa.
- 55 En otra modalidad, la presente descripción se refiere a diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida para su uso en el tratamiento complementario de la enfermedad de Alzheimer en un paciente en tratamiento con donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.
- 60 En otra modalidad, la presente descripción se refiere a tartrato de N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida para su uso en el tratamiento complementario de la enfermedad de Alzheimer en un paciente en tratamiento con donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.
- 65 En otra modalidad, la presente descripción se refiere a tartrato de N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida para su uso en el tratamiento complementario de la enfermedad de Alzheimer en un paciente en tratamiento con donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, la presente descripción se refiere al uso de la combinación de agonista inverso del receptor de histamina-3 e inhibidor de acetilcolinesterasa en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos cognitivos.

5 En otra modalidad, la presente descripción se refiere al uso de la combinación del agonista inverso del receptor de histamina-3 y el inhibidor de acetilcolinesterasa en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos cognitivos, seleccionados de la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia frontotemporal, síndrome de Down o síndrome de Tourette.

10 En otra modalidad, la presente descripción se refiere al uso de la combinación de agonista inverso del receptor de histamina-3 e inhibidor de acetilcolinesterasa en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

15 En otra modalidad, la presente descripción se refiere al uso de agonista inverso del receptor de histamina-3 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en combinación con un inhibidor de acetilcolinesterasa.

20 En otra modalidad, la presente descripción se refiere al uso de agonista inverso del receptor de histamina-3 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer como complemento al inhibidor de acetilcolinesterasa.

25 En otra modalidad, la presente descripción se refiere al uso de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en combinación con donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, la presente descripción se refiere al uso de diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en combinación con donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

30 En otra modalidad, la presente descripción se refiere al uso de diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en combinación con clorhidrato de donepezilo.

35 En otra modalidad, la presente descripción se refiere a la combinación para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, en donde la enfermedad de Alzheimer es la enfermedad de Alzheimer leve.

En otra modalidad, la presente invención se refiere a la combinación para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, en donde la enfermedad de Alzheimer es la enfermedad de Alzheimer moderada.

40 En otra modalidad, la presente descripción se refiere a la combinación para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, en donde la enfermedad de Alzheimer es la enfermedad de Alzheimer grave.

45 En otra modalidad, la presente descripción se refiere a la combinación en donde los ingredientes activos pueden administrarse a un paciente de manera concurrente o por separado.

En otro aspecto más, los ingredientes activos de la combinación de la presente descripción se administran normalmente mediante formulación de los ingredientes activos en una composición farmacéutica de acuerdo con la práctica farmacéutica estándar.

50 En otro aspecto más, los ingredientes activos de la combinación de la presente descripción pueden administrarse por vía oral, nasal, local, dérmica o parenteral.

55 En otro aspecto más, los ingredientes activos de la combinación de la presente descripción pueden administrarse por la misma o diferente vía de administración. Por ejemplo, el agonista inverso del receptor de histamina-3 de la presente descripción puede administrarse por vía oral y el inhibidor de acetilcolinesterasa puede administrarse por vía transdérmica.

60 Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden formularse convencionalmente mediante el uso de uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes farmacéuticamente aceptables son diluyentes, desintegrantes, aglutinantes, lubricantes, agentes de deslizamiento, polímeros, agentes de recubrimiento, disolventes, codisolventes, conservantes, agentes humectantes, agentes espesantes, agentes antiespumantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, antioxidantes, colorantes, solubilizantes, plastificantes, agentes dispersantes y similares. Los excipientes se seleccionan entre celulosa microcristalina, manitol, lactosa, almidón pregelatinizado, almidón glicolato sódico, almidón de maíz o derivados de estos, povidona, crospovidona, estearato de calcio, monoestearato de glicerilo, palmitostearato de glicerilo, talco, dióxido de silicón coloidal, estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio, fumarato de estearilo de sodio, estearato de zinc, ácido esteárico o aceite vegetal hidrogenado, goma arábiga, magnesia, glucosa, grasas, ceras, aceites naturales o endurecidos, agua, solución fisiológica de cloruro de sodio o alcoholes, por ejemplo,

etanol, propanol o glicerol, soluciones de azúcar, tales como soluciones de glucosa o soluciones de manitol y similares o una mezcla de los diversos excipientes.

5 En otro aspecto más, los compuestos activos de la descripción pueden formularse en forma de píldoras, tabletas, tabletas recubiertas, cápsulas, polvo, gránulos, comprimidos, parches, implantes, películas, líquidos, semisólidos, geles, aerosoles, emulsiones, elixires y similares. Tales composiciones farmacéuticas y los procesos para preparar las mismas se conocen bien en la técnica.

10 En otro aspecto más, la composición farmacéutica de la descripción instantánea contiene 1 a 90 %, 5 a 75 % y 10 a 60 % en peso de los compuestos de la descripción instantánea o sal farmacéuticamente aceptable de estos. La cantidad de los compuestos activos o su sal farmacéuticamente aceptable en la composición o composiciones farmacéuticas puede variar de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 100 mg o de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 60 mg o de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 30 mg o en cualquier intervalo que cae dentro del intervalo más amplio de 0,1 mg a 100 mg.

15 En otro aspecto más, la composición farmacéutica de la combinación de la descripción instantánea puede ser formulaciones convencionales tales como formulaciones de liberación inmediata, formulaciones de liberación modificada tales como formulaciones de liberación sostenida, formulaciones de liberación retardada y formulaciones de liberación prolongada o nuevos sistemas de suministro tales como formulaciones de desintegración oral y parches transdérmicos.

20 Las dosis de los compuestos activos pueden variar en dependencia de factores tales como la edad y el peso del paciente, la naturaleza, la vía de administración y la gravedad de la enfermedad a tratar y otros factores similares. Por lo tanto, cualquier referencia con respecto a la cantidad farmacológicamente eficaz de los compuestos 1, 2 y 3 se refiere a los factores mencionados anteriormente.

25 En otro aspecto más, el agonista inverso del receptor de histamina-3 puede administrarse conjuntamente con el inhibidor de acetilcolinesterasa a una dosis diaria de 0,1 mg a 100 mg; tal como 0,1, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 3, 5, 6, 10, 20, 25, 30, 50, 75 y 100 mg, preferentemente a una dosis diaria de 0,1, 3, 5, 6, 10, 20, 25, 30 o 50 mg y con la máxima preferencia a una dosis diaria de 0,5, 3, 5, 10 o 20 mg.

30 En otro aspecto más, el inhibidor de acetilcolinesterasa puede administrarse conjuntamente con el agonista inverso del receptor de histamina-3 a una dosis diaria de 1 mg a 30 mg; tal como 1, 1,5, 2, 3, 4, 4,5, 5, 6, 8, 9,5, 10, 12, 13, 13,3, 15, 16, 23, 24, 25 o 30 mg, preferentemente a una dosis diaria de 1, 1,5, 2, 3, 4, 4,5, 5, 6, 8, 9,5, 10, 12, 13, 13,3, 16, 23, 24, o 25 mg y con la máxima preferencia a una dosis diaria de 1,5, 3, 4, 4,5, 5, 6, 8, 9,5, 10, 12, 13,3, 16, 23 o 24 mg.

35 En otro aspecto más, el inhibidor de acetilcolinesterasa puede administrarse conjuntamente con el agonista inverso del receptor de histamina-3 a una dosis diaria de 2 mg a 30 mg; tal como 2, 5, 10, 15, 23, 25 o 30 mg, preferentemente a una dosis diaria de 2, 5, 10, 23 o 25 mg y con la máxima preferencia a una dosis diaria de 5, 10 o 23 mg.

40 En otro aspecto más, el inhibidor de acetilcolinesterasa, la rivastigmina, puede administrarse conjuntamente con el agonista inverso del receptor de histamina-3 a una dosis diaria de 0,5 mg a 15 mg; tal como 0,5, 1, 1,5, 3, 4,5, 5, 6, 9,5, 10, 13,3, 15 mg, preferentemente a una dosis diaria de 1, 1,5, 3, 4,5, 5, 6, 9,5 o 13,3 mg y con la máxima preferencia, a una dosis diaria 1,5, 3, 4,5, 6, 9,5 y 13,3 mg.

45 En otro aspecto más, el inhibidor de acetilcolinesterasa, galantamina, puede administrarse conjuntamente con el agonista inverso del receptor de histamina-3 a una dosis diaria de 1 mg a 30 mg; tal como 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24 y 30 mg, preferentemente a una dosis diaria de 2, 4, 6, 8, 12, 16 y 24 mg y con la máxima preferencia a una dosis diaria de 4, 8, 12, 16 y 24 mg.

50 En otro aspecto más, el tratamiento comprende administrar al paciente 0,1 mg a 100 mg de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de este, por día.

55 En otro aspecto más, el tratamiento comprende administrar al paciente 0,1 mg a 60 mg de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de este, por día.

En otro aspecto más, el tratamiento comprende administrar al paciente 0,1 mg a 30 mg de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de este, por día.

60 En otro aspecto más, el tratamiento comprende administrar al paciente de 1 mg a 25 mg de donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, por día.

En otro aspecto más, el tratamiento comprende administrar al paciente de 5 mg a 25 mg de donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, por día.

65 En otro aspecto más, el tratamiento comprende administrar al paciente 5, 10 o 23 mg de donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, por día.

En otro aspecto más, el tratamiento comprende administrar los compuestos activos al paciente de una a tres veces por día, de una a tres veces por semana o de una a tres veces por mes. Preferentemente, el tratamiento comprende administrar el compuesto a un paciente una vez al día, dos veces al día o tres veces al día. Con mayor preferencia, el tratamiento comprende administrar el compuesto a un paciente una vez al día.

EJEMPLOS

Los ejemplos que se proporcionan a continuación se proporcionan solo a modo de ilustración y, por lo tanto, no deben interpretarse para limitar el alcance de la invención.

Abreviaturas:

ANOVA: Análisis de varianza
 AP: Anterior posterior
 aCSF: Líquido cefalorraquídeo artificial
 CaCl₂·2H₂O: Dihidrato de cloruro de calcio
 DV: Ventral dorsal
 DTT: Ditioneitol
 EC₅₀: Concentración eficaz media máxima
 EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético
 EEG: Electroencefalograma
 GDP: Difosfato de guanosina
 GPCR: Receptor acoplado a la proteína G
 HCl: Ácido clorhídrico
 h: Hora (s)
 HEPES: Ácido (4-(2-hidroxietil)piperazina-1-etanosulfónico
i.p.: Intraperitoneal
i.v.: Intravenoso
 KCl: Cloruro de potasio
 K_b: Constante de unión
 K_i: Constante inhibitoria
 LC-MS/MS: Espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida/espectrometría de masas
 mg: Miligramo
 MgCl₂: Cloruro de magnesio
 min: Minuto (s)
 ML: Lateral medial
 mM: Milimolar
 nmol/L: Nanomoles por litro
 NaCl: Cloruro sódico
 NaH₂PO₄·2H₂O: Dihidrógeno fosfato disódico dihidratado
 Na₂HPO₄·7H₂O: Monohidrógeno fosfato de sodio heptahidratado
 NPO: Nucleo Pontis Oralis
 nM: Nanomolar
p.o.: Vía Oral
s.c.: Subcutáneo
 S.E.M.: Error estándar de la media
 μM: Micromolar
 θ: Theta

Ejemplo 1:

Determinación de K_i valor en el receptor de histamina-3 humano y de rata

Los compuestos de prueba se evaluaron de acuerdo con los siguientes procedimientos para determinar el valor de K_i en el receptor de histamina-3 humano y de rata.

Materiales y métodos:

Fuente de receptores: Corteza frontal de cerebro de ratas o ADNc humano recombinante que se expresa en células CHO
 Radioligando: [3H]R-α-metilhistamina
 Concentración final del ligando: [3,0 nM]
 Determinantes no específicos: R-α-metilhistamina (100 μM)
 Compuesto de referencia: R-α-metilhistamina
 Control positivo: R-α-metilhistamina
 Condiciones de incubación:

Concentraciones crecientes de los compuestos de prueba o estándar se incubaron con los receptores de membrana y con los radioligandos en 5 mM de MgCl₂ y 50 mM de TRIS-HCl (pH 7,4) durante 60 minutos a temperatura ambiente. La reacción se terminó por filtración rápida al vacío en filtros de fibra de vidrio. Se determinó la radiactividad atrapada en los filtros y se comparó con los valores del control para establecer cualquier interacción del(de los) compuesto(s) de prueba con los sitios de unión del receptor humano clonado o el de rata.

Resultados:

S. núm.	Ejemplo	K _i del receptor K de histamina-3 humano(nM)	K _i del receptor K de histamina-3 de rata (nM)
1	Compuesto 1	8.7	9.8
2	Compuesto 2	19.9	ND
3	Compuesto 3	8.3	ND
ND = sin realizar			

Referencia:

Br J Pharmacol., 2008, 154(6): 1166-1181.

Ejemplo 2:

Determinación de valores de IC₅₀ en receptor de histamina-3 humano

Los compuestos de prueba se evaluaron de acuerdo con los siguientes procedimientos para determinar los valores de IC₅₀.

Materiales y métodos:

Fuente de receptores:	Recombinantes humanas (células CHO-K1)
Radioligando:	[³⁵ S]-GTPγS
Concentración final del ligando:	[0,3 nM]
Compuesto de referencia:	Tioperamida
Control positivo:	Tioperamida

Condiciones de incubación:

Las concentraciones crecientes de compuestos de prueba y/o vehículo se preincubaban con las membranas (0,09 mg/mL) y 10 μM de GDP en tampón HEPES pH 7,4 modificado (20 mM de HEPES, pH 7,4, 100 mM de NaCl, 10 mM de MgCl₂, 1 mM de DTT, 1 mM de EDTA) durante 20 minutos y después se añaden perlas de SPA durante otros 60 minutos a 30 °C. La reacción se inicia por 0,3 nM de [³⁵S]GTPγS por un periodo adicional de incubación de 30 minutos. El aumento inducido por el compuesto de prueba de la unión de [³⁵S]GTPγS en un 50 por ciento o más (≥50 %) en relación con la respuesta de 3 μM de R(-)-a-metilhistamina indica una posible actividad agonista del receptor de histamina-3. La inhibición inducida por el compuesto de prueba del aumento inducido por 0,03 μM de R(-)-a-metilhistamina de la respuesta de unión de [³⁵S]GTPγS en un 50 por ciento o más (≥50 %) indica actividad antagonista del receptor. Estos estudios se llevaron a cabo y los datos se analizaron en Eurofins Panlabs Taiwan Ltd, Taiwán, mediante el uso de técnicas estándar de unión de radioligandos como se describió anteriormente.

Resultados:

El compuesto 1 exhibe propiedades similares a las del agonista inverso en el ensayo de GTPγS en el receptor de histamina-3 recombinante humano con valor de IC₅₀ de 20 nM.

Referencia:

J. Neurochem., 1998, 71(2): 808-816.

Ejemplo 3:

Modelo de tarea de reconocimiento de objetos

5 Las propiedades de potenciación de la cognición de los compuestos de esta invención se estimaron mediante el uso de este modelo.

10 Se usaron ratas Wistar machos (8-10 semanas de edad) como animales de experimentación. En cada caja se alojaron cuatro animales. Los animales se mantuvieron con un 20 % de privación de alimentos desde un día antes de la experimentación. Se proporcionó agua a voluntad durante todo el experimento. Los animales se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas a temperatura y humedad ambiente controladas. El experimento se realizó en un campo abierto hecho con acrílico. Además, las ratas se habituaron en arenas individuales (campo abierto) en ausencia de cualquier objeto en el día 1.

15 Las ratas recibieron vehículo, donepezilo o compuesto de prueba y AChEI (donepezilo, galantamina o rivastigmina) el día de la habituación, antes de los ensayos familiar (T_1) y de elección (T_2). Durante la fase de familiarización (T_1), las ratas se colocaron individualmente en la arena durante 3 minutos, en las que dos objetos idénticos (a_1 y a_2) se colocaron a 10 cm de la pared. 24 horas después del ensayo T_1 , se evaluó para la prueba de memoria a largo plazo. Se colocaron las mismas ratas en la misma arena que se colocaron en el ensayo T_1 . Durante la fase de elección (T_2) a las ratas se les permitió explorar la arena durante 3 minutos en presencia de una copia de un objeto familiar (a_3) y un nuevo objeto (b). Durante los ensayos T_1 y T_2 , se registraron las exploraciones de cada objeto (que se define como olfatear, lamer, masticar o tener vibras en movimiento, mientras se dirige la nariz hacia el objeto a una distancia inferior a 1 cm) mediante un cronómetro. T_1 es el tiempo total consumido en la exploración de los objetos familiares ($a_1 + a_2$). T_2 es el tiempo total consumido en la exploración de los objetos familiares y objetos nuevos ($a_3 + b$).

25 La prueba de reconocimiento de objetos se realizó como se describe en Behavioural Brain Research, 1988, 31, 47-59.

Resultados:

30 El vehículo o el compuesto de prueba o los animales tratados con AChEI consumieron casi el mismo tiempo en la exploración de los objetos nuevos y los familiares. Los grupos tratados con la combinación de compuesto de prueba y AChEI (donepezilo, galantamina o rivastigmina) consumieron significativamente más tiempo en la exploración del objeto nuevo y discriminaron entre el objeto nuevo y el familiar. Este efecto procognitivo sugiere un efecto potenciador del compuesto de prueba sobre el efecto procognitivo de AChEI (donepezil, galantamina o rivastigmina) solo. Los resultados de este estudio se proporcionan en las figuras 1a, 1b, 1c y 2.

Ejemplo 4:

Evaluación de la modulación de acetilcolina en la corteza prefrontal medial de ratas Wistar macho

40 Se implantaron estereotóxicamente ratas Wistar machos (240-300 g de peso corporal) con una cánula de guía de microdiálisis en la corteza prefrontal medial (mPFC; AP: +3,2 mm, ML: -0,5 mm, DV: -3,0 mm) bajo anestesia con isoflurano. Las coordenadas se tomaron de acuerdo con el atlas para el cerebro de la rata (Paxinos y Watson 2004) con puntos de referencia tomados desde el vértice y los verticales desde el cráneo. Se permitió que las ratas se recuperaran individualmente durante cuatro días en un recipiente de plexiglás de fondo redondo con libre acceso a alimento y agua.

50 Después de la recuperación quirúrgica de 4 días, las ratas Wistar macho se conectaron a un pivote de líquido de dos canales revestido de cuarzo (Instech, Reino Unido) en un brazo de palanca de contrapeso, que permitió movimientos sin restricción del animal. Dieciséis horas antes del inicio del estudio, se insertó una sonda de microdiálisis preequilibrada (membrana de diálisis de 2 mm) en mPFC a través de la cánula guía. El día del estudio, la sonda se perfundió con líquido cefalorraquídeo artificial (aCSF; 147 mM de NaCl, 2,7 mM de KCl, 1 mM de $MgCl_2$, 1,2 mM de $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, pH 7,4) a un régimen de flujo de 1,5 $\mu L/min$ y se mantuvo un período de estabilización de 2 h. Se recogieron cinco muestras basales a intervalos de 20 minutos antes del tratamiento de los compuestos de prueba (3 o 10 mg/kg, *p.o.*) o vehículo. Se administró donepezilo (1 mg/kg, *s.c.*) o rivastigmina (0,5 mg/kg, *s.c.*) 30 minutos después de la administración de los compuestos de prueba. Se recogieron muestras de dializado durante un período adicional de 4 h después del tratamiento de los compuestos de prueba. Los dializados se almacenaron por debajo de -50 °C antes del análisis.

Cuantificación de acetilcolina

60 Las concentraciones de acetilcolina en los dializados se cuantificaron mediante el uso del método basado en LC-MS/MS.

Análisis estadístico:

65 Todos los datos de microdiálisis para acetilcolina se representaron como un cambio porcentual respecto de las concentraciones basales medias de dializado con un 100 % definido como el promedio de cinco valores previos a la dosis. El cambio porcentual en los niveles de acetilcolina después del tratamiento combinado se comparó con donepezilo o

5 rivastigmina mediante el uso del análisis de varianza de dos vías (tiempo y tratamiento), seguido de la prueba post de Bonferroni. Se calcularon los valores del área bajo la curva (AUC) para el cambio porcentual en los niveles de acetilcolina y se comparó la significación estadística entre el valor medio de AUC después del tratamiento de la combinación con los valores de AUC después del tratamiento con donepezilo o rivastigmina solo mediante el uso de la prueba "t" no pareada. La significación estadística se consideró como un valor de p menor que 0,05. La colocación incorrecta de la sonda se consideró como criterio para rechazar los datos del animal.

Referencia:

10 1. Paxinos G. y Watson C. (2004) Rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York.

Resultados:

Compuesto 1

15 El tratamiento con donepezil produjo un aumento en los niveles basales de acetilcolina cortical y alcanzó el máximo de 933 ± 74 % de los niveles basales. El compuesto 1 en combinación con donepezilo produjo un aumento significativo en los niveles de acetilcolina y los niveles máximos alcanzaron hasta 1676 ± 150 % de los niveles previos a la dosis (Figura 3 (a)). Los valores de área media bajo la curva (AUC) calculados después del tratamiento de la combinación del Compuesto 1 y el donepezilo fue significativamente mayor en comparación con el donepezilo solo (Figura 3 (b)).

20 El tratamiento con rivastigmina produjo un aumento en los niveles basales de acetilcolina cortical y alcanzó el máximo de 612 ± 104 % de los niveles basales. El compuesto 1 en combinación con rivastigmina produjo un aumento significativo en los niveles de acetilcolina y los niveles máximos alcanzaron hasta 1276 ± 213 % de los niveles previos a la dosis (Figura 4(a)). Los valores de área media bajo la curva (AUC) calculados después del tratamiento de la combinación del Compuesto 1 y rivastigmina fue significativamente mayor en comparación con la rivastigmina sola (Figura 4(b)).

Compuesto 2

30 El tratamiento con donepezil produjo un aumento en los niveles basales de acetilcolina cortical y alcanzó el máximo de 1459 ± 146 % de los niveles basales. El compuesto 2 en combinación con donepezilo produjo un aumento significativo en los niveles de acetilcolina y los niveles máximos alcanzaron hasta 3057 ± 468 % de los niveles previos a la dosis (Figura 5(a)). Los valores de área media bajo la curva (AUC) calculados después del tratamiento de la combinación del Compuesto 2 y el donepezilo fue significativamente mayor en comparación con el donepezilo solo (Figura 5 (b)).

Compuesto 3

40 El tratamiento con donepezil produjo un aumento en los niveles basales de acetilcolina cortical y alcanzó el máximo de 1170 ± 161 % de los niveles basales. El compuesto 3 en combinación con donepezilo produjo un aumento significativo en los niveles de acetilcolina y los niveles máximos alcanzaron hasta 1874 ± 184 % de los niveles previos a la dosis (Figura 6(a)). Los valores de área media bajo la curva (AUC) calculados después del tratamiento de la combinación del Compuesto 3 y el donepezilo fue significativamente mayor en comparación con el donepezilo solo (Figura 6 (b)).

Ejemplo 5:

45 Evaluación de la modulación theta en el hipocampo dorsal de ratas Wistar machos anestesiadas

50 Se anestesiaron ratas Wistar macho (240-320 g) mediante administración intraperitoneal de uretano (1,2 a 1,5 g/kg) para la implantación de un catéter en la vena femoral izquierda. El animal se colocó en un marco estereotáxico para implantar un electrodo (alambre de acero inoxidable, Plastics One) en el hipocampo dorsal (AP, -3,8 mm; ML, +2,2 mm; DV, -2,5 mm; Paxinos y Watson, 2004). Se implantó electrodo estimulante bipolar (cables de acero inoxidable sin retorcer, separados por 0,75-1,0 mm en sus puntas, Plastics One), en el Nucleus Pontis Oral (NPO; AP, -7,8 mm; ML, 1,8 mm; DV, -6,0 mm; Paxinos y Watson, 2004). Adicionalmente, se implantó un electrodo en el cerebelo que sirvió como referencia. El ritmo del hipocampo θ se evocó a través de un tren de estimulación eléctrica de 6 s (20-160 μ A, duración de pulso de 0,3 ms, 250 Hz) suministrado al NPO a una velocidad de 0,01 trenes/s con un estimulador Grass S88 y una unidad de aislamiento de estímulo PSIU6 (Grass Medical Instruments, Quincy, MA). El EEG se registró a una velocidad de 1000Hz con el software Ponemah (Versión 5.2) y se almacenó para el análisis fuera de línea con NeuroScore (Versión 3.0). El nivel de amplitud de línea de base se logró mediante el uso de la corriente requerida para obtener el ritmo θ al 50 % de la amplitud máxima en condiciones de control. Después del período de estabilización de una hora, se realizó un registro inicial durante 30 minutos seguido del tratamiento del vehículo o Compuesto 1 (1 mg/kg, *i.v.*). Se administró donepezilo (0,3 mg/kg, *i.v.*) 30 minutos después del tratamiento con el Compuesto 1 y se continuó el registro durante 1 hora adicional.

Análisis estadístico:

65

Se calculó la potencia en la frecuencia de ritmo θ en el período de estimulación durante el período de referencia de 30 minutos y se calculó el % de cambios en estas medidas después del tratamiento. El cambio porcentual en los niveles de potencia relativa theta después del tratamiento de combinación se comparó con donepezilo o rivastigmina mediante el uso del análisis de varianza de dos vías (tiempo y tratamiento), seguido de la prueba post de Bonferroni. La significación estadística se consideró como un valor de p menor que 0,05.

Referencia:

1. Paxinos G. y Watson C. (2004) Rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York

Resultados:

El tratamiento con donepezilo produjo un aumento en la potencia de theta del hipocampo. El compuesto 1 en combinación con donepezilo produjo un aumento significativo en los niveles de potencia theta y los niveles máximos alcanzaron hasta 163 ± 15 % de los niveles previos a la dosis (Figura 7 (a)).

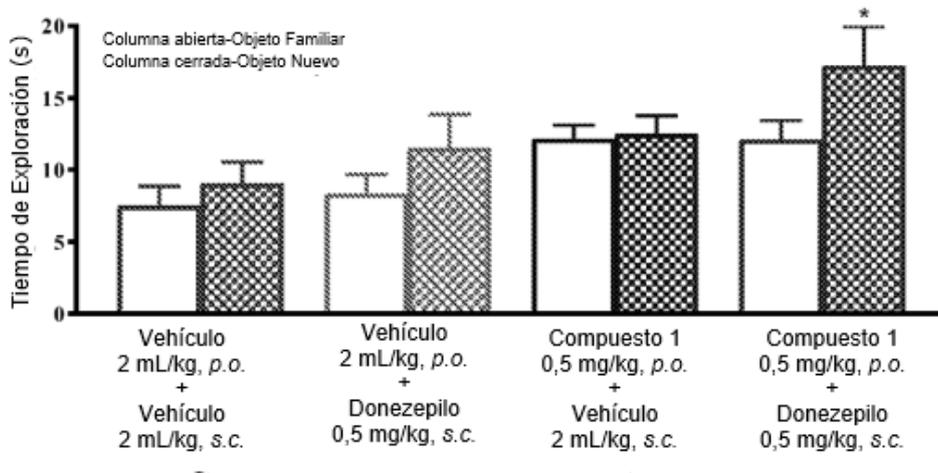
Los valores de área media bajo la curva (AUC) calculados después del tratamiento de compuesto 1 y el donepezilo fue significativamente mayor en comparación con el donepezilo solo (Figura 7 (b)).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una combinación que comprende un agonista inverso del receptor de histamina-3 y un inhibidor de acetilcolinesterasa; en donde el agonista inverso del receptor de histamina-3 se selecciona del grupo que consiste en:
N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida;
N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida; y
N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida;
o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.
- 10 2. La combinación como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde el inhibidor de acetilcolinesterasa se selecciona del grupo que consiste en donepezilo, rivastigmina y galantamina o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.
- 15 3. La combinación como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde el agonista inverso del receptor de histamina-3 es N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.
- 20 4. La combinación como se reivindicó en la reivindicación 1 o la reivindicación 3, en donde la sal farmacéuticamente aceptable del agonista inverso del receptor de histamina-3 se selecciona de,
Diclorhidrato de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida;
Tartrato de N-[4-(1-ciclopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida; y
Tartrato de N-[4-(1-isopropilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida.
- 25 5. La combinación como se reivindicó en la reivindicación 1, 3 o 4, en donde el agonista inverso del receptor de histamina-3 es diclorhidrato de N-[4-(1-Ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida.
- 30 6. La combinación como se reivindicó en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el inhibidor de acetilcolinesterasa es donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este o en donde el inhibidor de acetilcolinesterasa es clorhidrato de donepezilo.
- 35 7. Una combinación que comprende diclorhidrato de N-[4-(1-Ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida y clorhidrato de donepezilo.
- 40 8. La combinación como se reivindicó en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de trastornos cognitivos en un paciente.
- 45 9. La combinación para su uso como se reivindicó en la reivindicación 8, en donde el trastorno cognitivo se selecciona de la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, demencia frontotemporal, síndrome de Down o síndrome de Tourette.
- 50 10. Un compuesto, N-[4-(1-Ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta para su uso en combinación con inhibidor de acetilcolinesterasa para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en un paciente.
- 55 11. El compuesto para su uso como se reivindicó en la reivindicación 10, como un tratamiento complementario en un paciente en tratamiento estable con inhibidor de acetilcolinesterasa.
- 60 12. El compuesto para su uso como se reivindicó en la reivindicación 10 o la reivindicación 11, en donde el inhibidor de acetilcolinesterasa se selecciona de donepezilo, rivastigmina y galantamina o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.
13. El compuesto para su uso como se reivindicó la reivindicación 10 o la reivindicación 11,
(a) en donde el tratamiento comprende administrar al paciente 0,1 mg a 100 mg de N-[4-(1-Ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de este, por día, o
(b) en donde el tratamiento comprende administrar al paciente 0,1 mg a 60 mg de N-[4-(1-Ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de este, por día, o
(c) en donde el tratamiento comprende administrar al paciente 0,1 mg a 30 mg de N-[4-(1-ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de este, por día, o
(d) en donde el tratamiento comprende administrar al paciente 1 mg a 30 mg de donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, por día.
14. Una composición farmacéutica que comprende la combinación como se reivindicó en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y excipientes farmacéuticamente aceptables o combinación de estos.

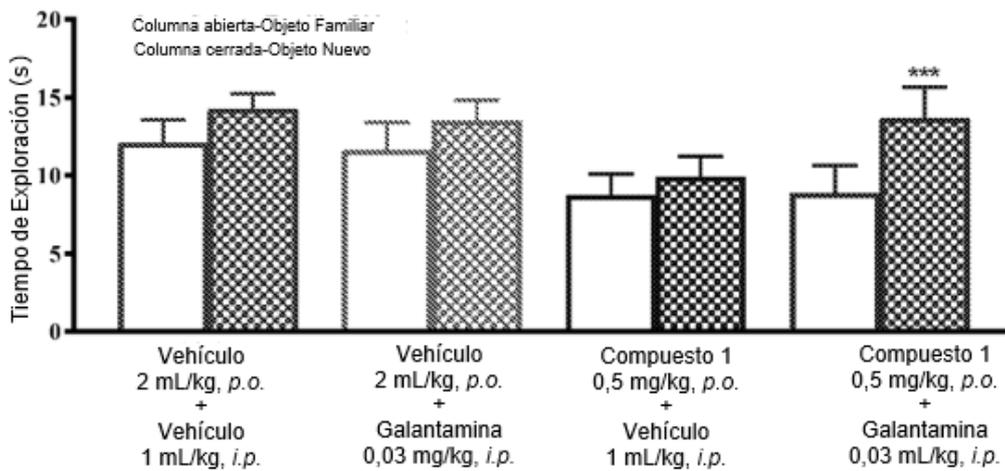
15. La composición farmacéutica como se reivindicó en la reivindicación 14, para su uso en el tratamiento de trastornos cognitivos seleccionados de la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, y demencia frontotemporal.
- 5 16. La composición farmacéutica como se reivindicó en la reivindicación 14 o la reivindicación 15,
(a) en donde la N-[4-(1-Ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, está presente en una cantidad de 0,1 mg a 100 mg, o
(b) en donde la N-[4-(1-Ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, está presente en una cantidad de 0,1 mg a 60 mg, o
10 (c) en donde la N-[4-(1-Ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, está presente en una cantidad de 0,1 mg a 30 mg, o
(d) en donde el donepezilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, está presente en una cantidad de 2 mg a 30 mg.
- 15 17. El compuesto para su uso como se reivindicó en la reivindicación 10, en donde el tratamiento comprende administrar N-[4-(1-Ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta al paciente por vía oral, nasal, local, dérmica o parenteral.
- 20 18. El compuesto para su uso como se reivindicó en la reivindicación 10, en donde el tratamiento comprende administrar N-[4-(1-Ciclobutilpiperidin-4-iloxi)fenil]-2-(morfolin-4-il)acetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de esta al paciente una a tres veces a día, una a tres veces por semana o una a tres veces por mes.

Figura 1a:



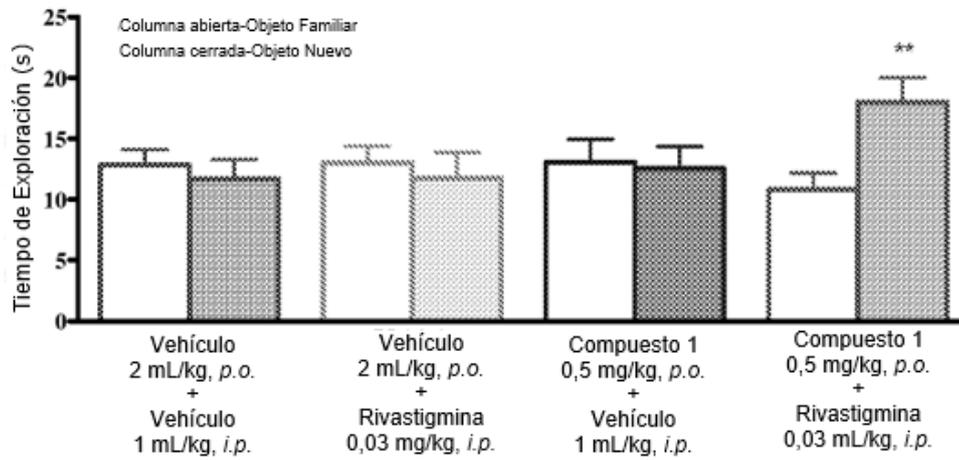
Los datos representan la media \pm SEM del Tiempo de Exploración (* $p < 0,05$ frente a objeto familiar, prueba t de Student pareada), $n = 8-10$

Figura 1b:



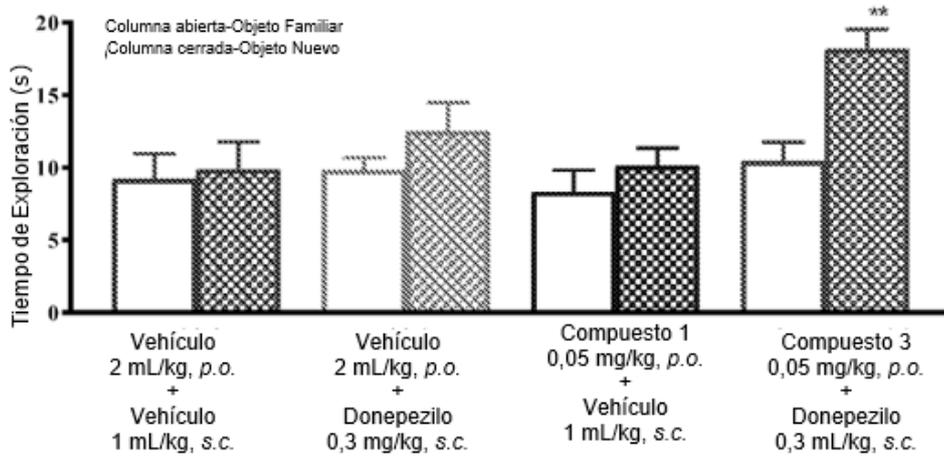
Los datos representan la media \pm SEM del Tiempo de Exploración (***) $p < 0,001$ frente a objeto familiar, prueba "t" de Student pareada), $n = 7-10$

Figura 1c



Los datos representan la media \pm SEM del Tiempo de Exploración (** $p < 0,01$ frente a objeto familiar, prueba "t" de Student pareada), n=9-12

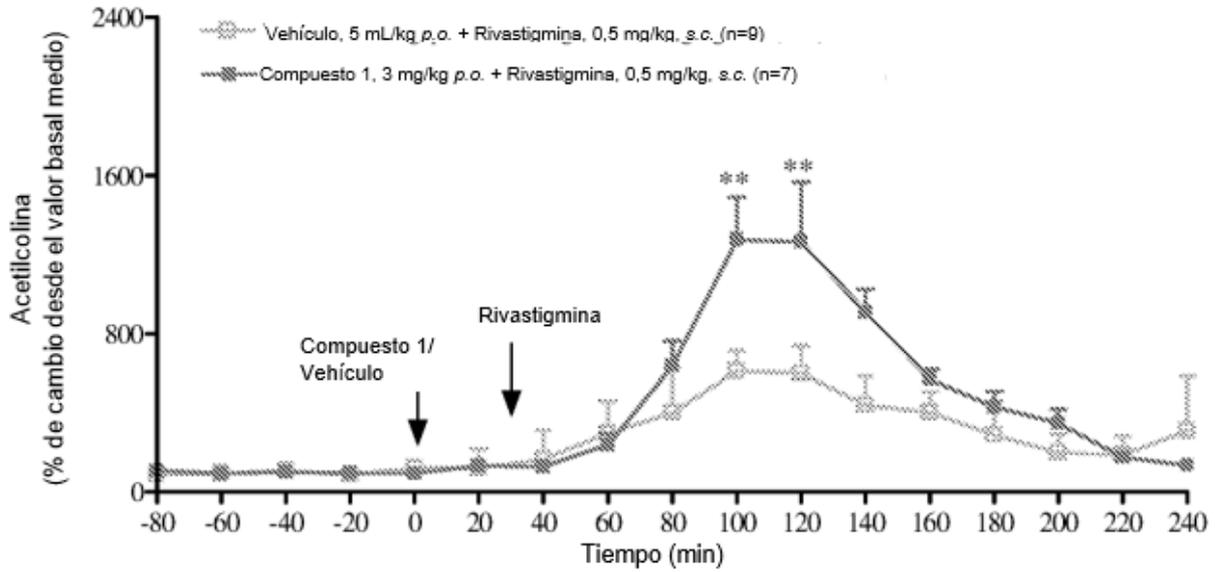
Figura 2



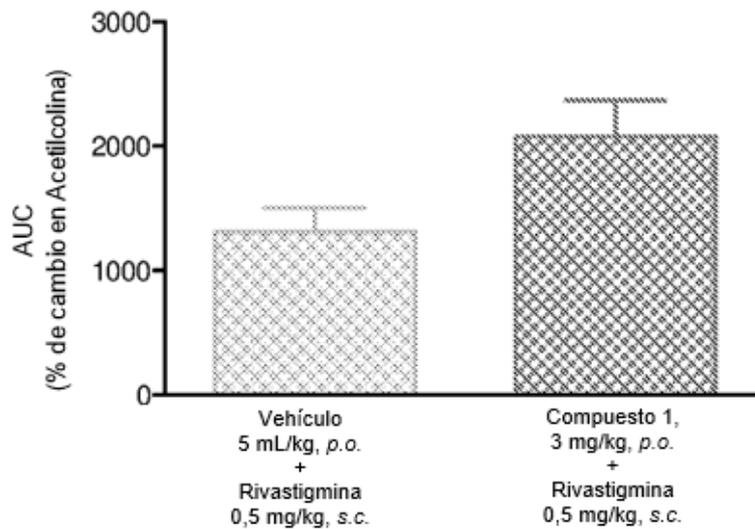
Los datos representan la media \pm SEM del Tiempo de Exploración (** $p < 0,01$ frente a objeto familiar, prueba "t" de Student pareada), n=9-11

Figura 4

(a)



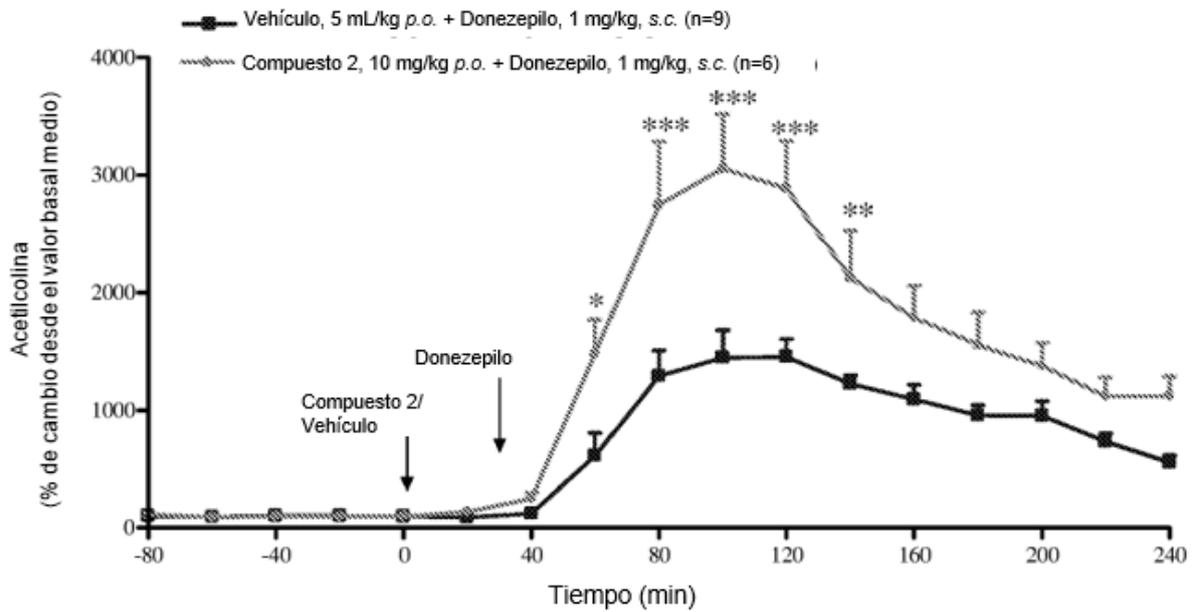
(b)



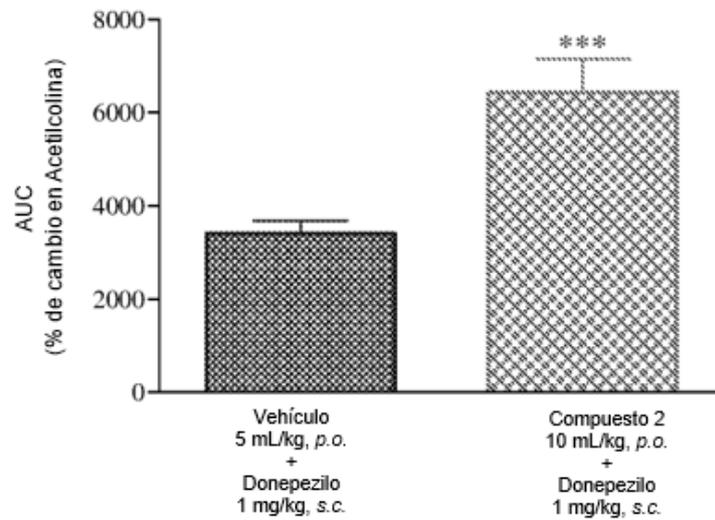
(a) Datos expresados como la media \pm SEM. ** $p < 0,01$ frente a rivastigmina sola (Prueba post de Bonferroni)

(b) Área bajo la curva (AUC) \pm SEM.

Figura 5: (a)

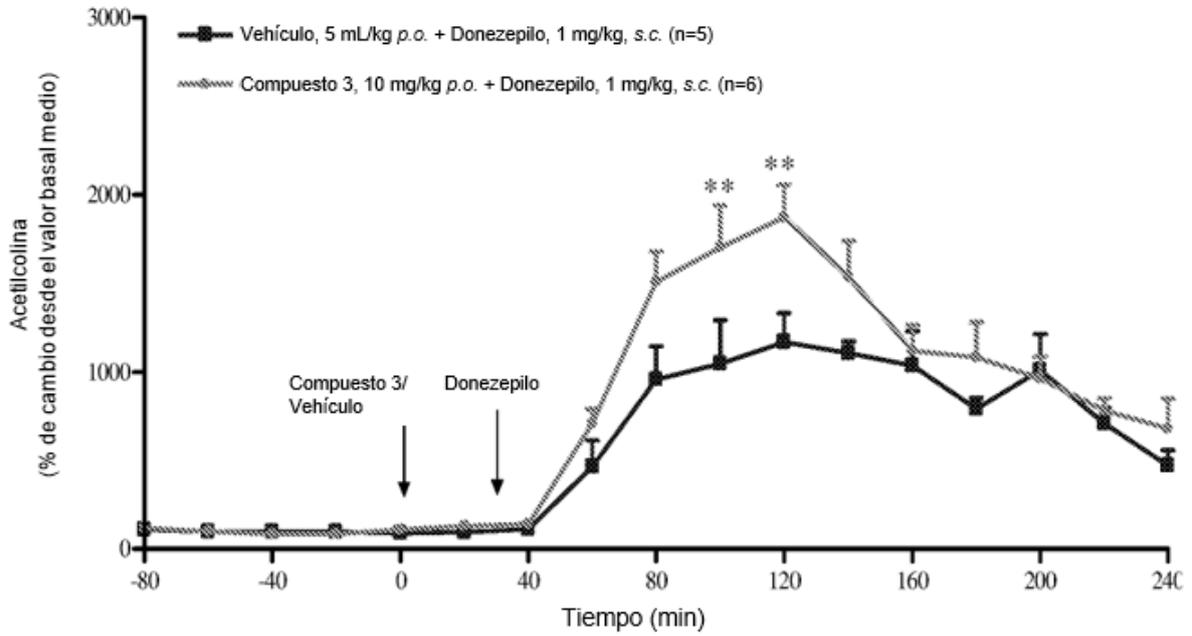


(b)

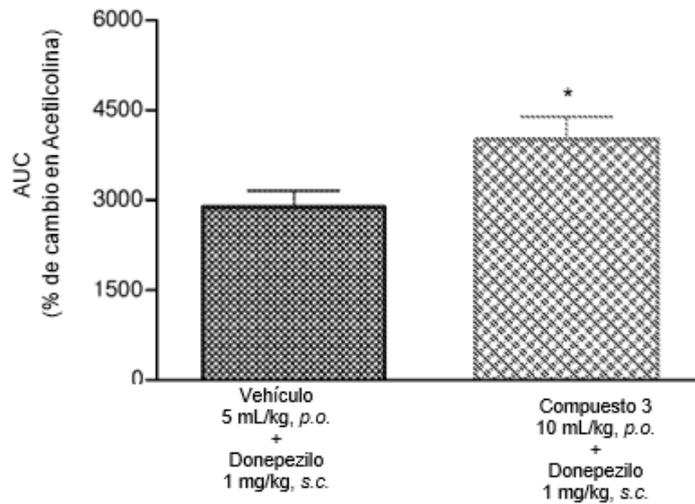


(a) Datos expresados como la media \pm SEM. ** $p < 0,05$, *** $p < 0,01$ y **** $p < 0,001$ frente a Donepezilo solo (Prueba post de Bonferroni) (b) Área bajo la curva (AUC) \pm SEM. **** $p < 0,001$ frente a Donepezilo solo (Prueba "t" no pareada).

Figura 6: (a)

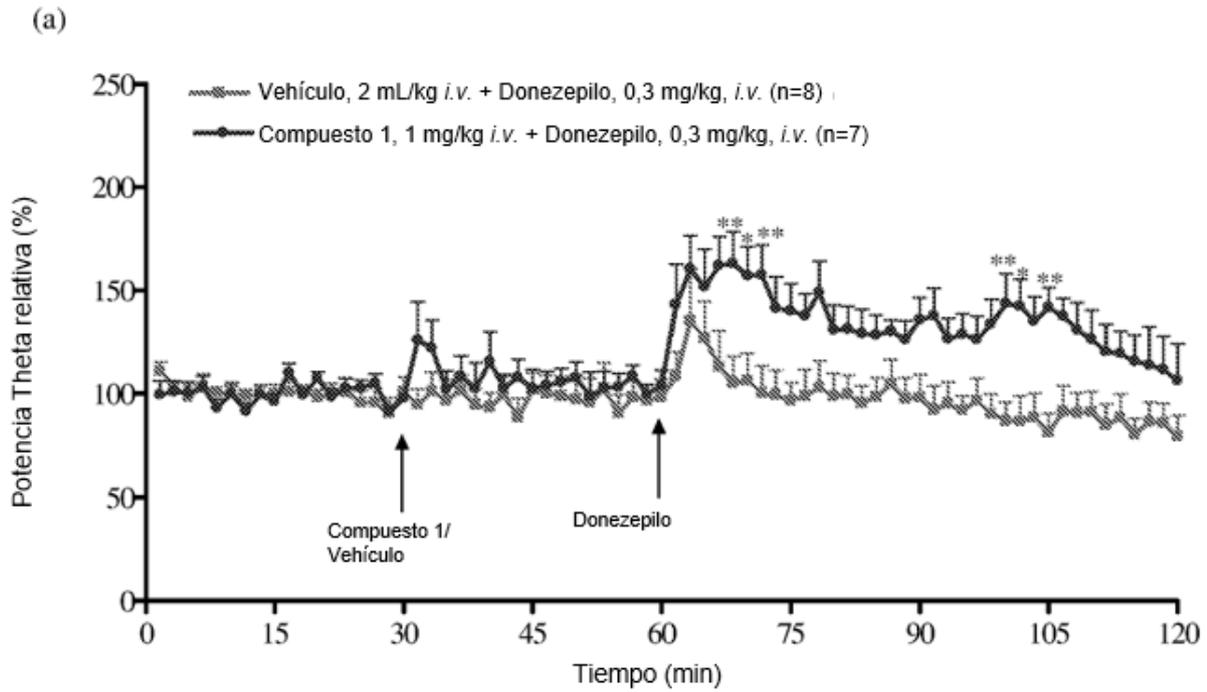


(b)

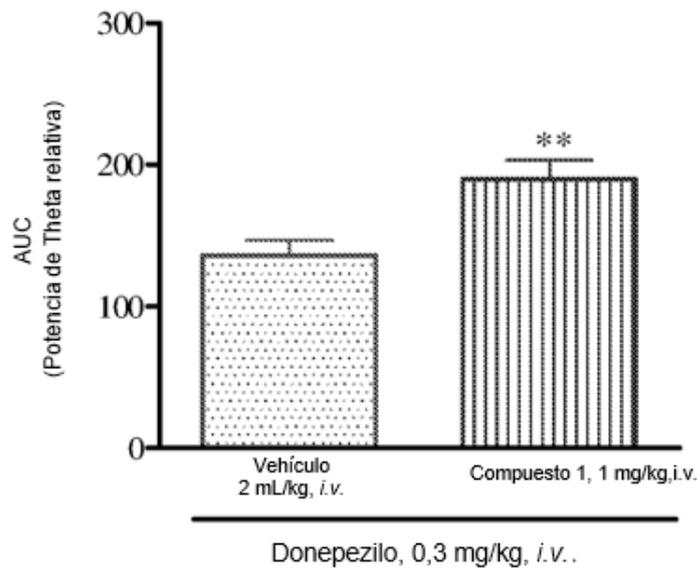


(a) Datos expresados como la media \pm SEM. ** $p < 0,01$ frente a Donepezilo solo (Prueba post de Bonferroni). (b) Área bajo la curva (AUC) \pm SEM. * $p < 0,05$ frente a Donepezilo solo (Prueba "t" no pareada).

Figura 7



(b)



(a) Datos expresados como la media \pm SEM. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ frente a Donepezilo solo (Prueba post de Bonferroni) (b) Área bajo la curva (AUC) \pm SEM. ** $p < 0,01$ frente a Donepezilo solo (Prueba "t" no pareada).