

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 883 838**

21 Número de solicitud: 202030533

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

04.06.2020

43 Fecha de publicación de la solicitud:

09.12.2021

71 Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA (100.0%)

Avenida Cervantes, 2

29071 Málaga (Málaga) ES

72 Inventor/es:

NARVÁEZ PELÁEZ, Manuel;

BARBANCHO FERNÁNDEZ, Miguel Ángel;

GARCÍA CASARES, Natalia;

FUXE, Kjell y

BORROTO ESCUELA, Dasiel Óscar

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

54 Título: **PREVENCIÓN Y/O TRATAMIENTO DEL DETERIORO COGNITIVO ASOCIADO A SÍNDROMES DE DEMENCIA**

57 Resumen:

Prevención y/o tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia. La presente invención hace referencia a agonistas del receptor 2 de galanina (GALR2) y agonistas del receptor Y1 del neuropéptido Y (NPYY1R), y a composiciones farmacéuticas o kits que comprenden dichos agonistas para ser usados en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia, preferentemente en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer. La presente invención incluye además un método in vitro para la identificación y/o producción de compuestos útiles en dicha indicación terapéutica y un método in vitro para monitorizar la respuesta a su tratamiento.

ES 2 883 838 A1

DESCRIPCIÓN

PREVENCIÓN Y/O TRATAMIENTO DEL DETERIORO COGNITIVO ASOCIADO A SÍNDROMES DE DEMENCIA

CAMPO DE LA INVENCION

5

La presente invención pertenece al campo médico. Particularmente, la presente invención hace referencia a agonistas del receptor 2 de galanina (GALR2) y agonistas del receptor Y1 del neuropéptido Y (NPYY1R), para ser usados, en combinación, en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia, preferentemente en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer.

10

ESTADO DE LA TÉCNICA

15 Los trastornos del Sistema Nervioso Central (SNC), incluyendo enfermedades del neurodesarrollo, psiquiátricas y neurodegenerativas, representan una alta morbilidad en términos de sufrimiento humano y de coste económico. Según la OMS, cada año el 38,2% de la población total de la UE sufre como mínimo un trastorno del SNC, correspondiendo esto aproximadamente a 164,7 millones de personas.

20

Conforme establece la OMS, la demencia es un síndrome, generalmente de naturaleza crónica o progresiva, caracterizado por el deterioro de la función cognitiva (es decir, la capacidad para procesar el pensamiento) más allá de lo que podría considerarse una consecuencia del envejecimiento normal. La demencia afecta a la memoria, el pensamiento, la orientación, la comprensión, el cálculo, la capacidad de aprendizaje, el lenguaje y el juicio. La conciencia no se ve afectada. El deterioro de la función cognitiva suele ir acompañado, y en ocasiones es precedido, por el deterioro del control emocional, el comportamiento social o la motivación.

25

30 En este contexto, destaca la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad neurodegenerativa crónica más frecuente y que representa la mayor carga mundial de demencia en pacientes de edad avanzada. En la actualidad, los únicos medicamentos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA)

disponibles para pacientes con Alzheimer son aquellos dirigidos al sistema colinérgico (por ejemplo, donepezilo, tacrina, rivastigmina y galantamina) o el sistema glutamatérgico (por ejemplo, memantina). Sin embargo, ninguno de estos medicamentos es curativo o modificador del curso de la enfermedad, proporcionando
5 solamente un alivio temporal y sintomático, y a un subconjunto de pacientes con Alzheimer.

La comprensión limitada de los circuitos neuronales y los mecanismos moleculares implicados es una de las razones clave de la falta de tratamientos más efectivos. Por
10 lo tanto, la necesidad de nuevos tratamientos es uno de los principales desafíos en la investigación de la salud mental de la actualidad.

Se ha demostrado que en enfermos de Alzheimer tiene lugar una disminución en el número de células de determinadas poblaciones neuronales. Así, se ha descrito una
15 disminución de neuronas en el hipocampo. El factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF) es miembro de la familia de las neurotrofinas, que inducen mantenimiento y reparación de poblaciones neuronales específicas. Así, los valores de BDNF están significativamente reducidos en el hipocampo y la corteza parietal de pacientes con Alzheimer.

20 Los neuropéptidos y sus receptores han recibido una atención especial, ya que emergen como mediadores importantes de mecanismos neuronales en el hipocampo. El neuropéptido Y (NPY) es uno de los neuropéptidos más abundantes en el sistema nervioso central (SNC). Se trata de un polipéptido de 36 aminoácidos que está
25 filogenéticamente muy conservado, con una concentración elevada en varias regiones límbicas y corticales. De los 5 receptores de NPY conocidos que se expresan en el cerebro, los receptores NPYY1 (NPYY1R) y NPYY2 son los que se expresan mayoritariamente en el hipocampo, y aunque el NPYY1R se encuentra en todo el GD. Dentro del GD, el NPY se libera selectivamente por las interneuronas GABAérgicas
30 localizadas en el hilus o zona polimórfica, que inerva la capa de células granulares y la ZSG. Por su parte, la Galanina (GAL) también es un neuropéptido ampliamente distribuido en el SNC. Se han descrito tres subtipos de receptores de GAL en el SNC,

GALR1, GALR2 y GALR3. El receptor GALR2 se expresa ampliamente en el cerebro de la rata, donde entre las áreas de mayor expresión se encuentra el hipocampo.

Recientemente se ha demostrado que la GAL interactúa con el NPY1R en varias regiones del SNC asociadas con la ansiedad y depresión, incluyendo el núcleo dorsal del Rafe, núcleos de la amígdala y en el hipocampo ventral. De hecho, la función del hipocampo ventral está asociada a procesos emocionales, mientras que el hipocampo dorsal se relaciona con funciones cognitivas y de memoria. Además, se ha demostrado que estos efectos están mediados por los receptores GALR2 (el efecto de GAL se bloquea mediante un antagonista específico GALR2) y los receptores NPY1R (usando agonistas de NPY1R, como NPY, y bloqueando su efecto mediante un antagonista específico de NPY1R). Por tanto, cabría esperar efectos similares a los obtenidos en la presente invención con cualquier agonista de GALR2 o de NPY1R.

En la amígdala se ha observado una interacción facilitadora GALR2/NPY1R, al demostrarse como la GAL actuaba a través de GALR2 para potenciar la respuesta ansiolítica mediada por el NPY1R en ratas. Usando técnicas *in situ* de ligazón por proximidad (ELP), se ha determinado que los núcleos intercalados paracapsulares mediales de la amígdala constituyen un área clave en esta interacción, probablemente implicando la formación de complejos de heteroreceptores GALR2/NPY1R. Recientemente se ha confirmado que esta interacción GALR2/NPY1R no sólo afecta a la actividad de la amígdala, sino también a otras estructuras fundamentales en el control de las emociones y el estado de ánimo, como el hipotálamo o la sustancia gris periacueductal.

Respecto al hipocampo, se ha descrito esta interacción entre GALR2/NPY1R en el giro dentado (GD) del hipocampo. Usando técnicas de autorradiografía, hibridación *in situ* y el ELP, se ha demostrado la interacción entre GALR2/NPY1R en el GD implicando la formación de complejos de heteroreceptores GALR2/NPY1R y un aumento de actividad neuronal en dicha zona. Estos complejos se han observado específicamente en el hilus o región polimórfica y la ZSG del DG. Más recientemente

se ha demostrado como la interacción de ambos neuropéptidos aumenta la proliferación neuronal en hipocampo ventral con un efecto antidepresivo.

En el documento ES2589165B2 se refiere el efecto en el hipocampo ventral y su posible uso terapéutico en la depresión. Así, se ha demostrado que los efectos en el hipocampo ventral se relacionan con trastornos del ánimo como la depresión; sin embargo, las acciones en el hipocampo dorsal se asocian con funciones cognitivas como la memoria. De hecho, la presente invención se refiere a las acciones en el hipocampo dorsal y su posible uso terapéutico en trastornos cognitivos asociados a demencia.

En el documento ES2644978B1 se ha descrito que dicha interacción se produce en el hipocampo ventral y a corto plazo, en minutos. La presente invención se refiere a dicha interacción, pero producida en el hipocampo dorsal y a medio/largo plazo, en días o semanas.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En la presente invención se describe por primera vez como un agonista de GALR2 potencia la protección neuronal inducida por un agonista de NPY1R, creando una relación sinérgica entre ambos. En la presente invención se describe este efecto tanto en el hipocampo dorsal en ratas como en cultivos neuronales de hipocampo transcurridas 24 horas de la administración de los correspondientes agonistas. También se muestran indicios de la implicación de los receptores GALR2 en las acciones mediadas por GAL basadas en el uso de M871, antagonista específico de GALR2. Este aumento de la protección neuronal se evidenció mediante la detección de BDNF. Además, la combinación de agonistas de GALR2 y de NPY1R produce un aumento de la expresión de la proteína antiapoptótica BCL2, lo que es clave para la supervivencia de las neuronas del hipocampo.

En la presente invención se incluyen datos que demuestran el papel protector neuronal de agonistas de GALR2 y de NPY1R en el hipocampo tanto *in vitro* como *in vivo*. La evidencia en cultivos de neuronas *in vitro* demuestra un efecto protector de estas neuronas, ya que aumentan las vías intracelulares para la producción de estos factores protectores.

Estos efectos se acompañan de un incremento de los complejos GALR2/NPY1R en el hipocampo dorsal a las 24 horas de la administración de sus correspondientes agonistas. De nuevo GALR2 está implicado en dichos efectos, ya que su antagonista, M871, bloquea este efecto.

Los resultados indican que los agonistas de GALR2 aumentan de forma sinérgica la protección neuronal inducida por agonistas de NPY1R, probablemente actuando sobre el complejo heterorreceptor GALR2/NPY1R. Los datos aquí aportados permiten proponer el uso terapéutico de un agonista de GALR2 en combinación con un agonista de NPY1R como una estrategia novedosa para el tratamiento de la demencia o deterioro cognitivo tipo Alzheimer.

Conforme a lo anterior, la presente invención se refiere al uso de una combinación que comprende al menos un agonista de GALR2 y al menos un agonista de NPY1R, o análogos de los mismos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables; o alternativamente "los compuestos de la invención", en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia.

Ejemplos no limitante de dichos agonistas de GALR2, o de derivados o fragmentos funcionales de los mismos, son bien conocidos y están disponibles comercialmente, tales como AR-M 1896, galanina (1-29), galanina, galanina (1-15), galanina (1-30), galanina (2-29), *galnon*, M1145, *galmic*, NAX5055, D-Gal(7-Ahp)-B2, galanina 2-11 amida, M1153, CYM2503.

Ejemplos no limitantes de dichos agonistas de NPY₁R, o de derivados o fragmentos funcionales de los mismos, son bien conocidos y están disponibles comercialmente, tales como el neuropéptido Y, [Leu³¹,Pro³⁴]-neuropéptido Y.

- 5 Los agonistas de GALR₂ y/o NPY₁R, o sus análogos, pueden estar en su forma cristalina como compuestos libres o como solvatos. En este sentido, el término «solvato», como se usa en el presente documento, incluye tanto solvatos farmacéuticamente aceptables; es decir solvatos que pueden usarse en la fabricación de un medicamento, como solvatos farmacéuticamente no aceptables, que pueden
10 ser útiles en la preparación de solvatos o sales farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del solvato farmacéuticamente aceptable no es crítica siempre que sea farmacéuticamente aceptable. En una realización en particular, el solvato es un hidrato. Los solvatos pueden obtenerse mediante métodos convencionales de solvatación conocidos por aquellos expertos en la materia.

- 15 Más particularmente, la presente invención se refiere al uso de una combinación que comprende un agonista de GALR₂ y un agonista de NPY₁R, o análogos de los mismos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables, en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a
20 síndromes de demencia, incluidos trastornos mentales orgánicos sintomáticos. Estos trastornos pudieran incluir, de acuerdo con el sistema de clasificación internacional de enfermedades (International Classification of Diseases, ICD-10), lo siguientes: (F00) Demencia en la enfermedad de Alzheimer. (F00.0) Demencia en la enfermedad de Alzheimer de inicio precoz. (F00.1) Demencia en la enfermedad de
25 Alzheimer de inicio tardío. (F00.2) Demencia en la enfermedad de Alzheimer atípica o mixta. (F00.9) Demencia en la enfermedad de Alzheimer sin especificación. (F01) Demencia vascular. (F01.0) Demencia vascular de inicio agudo. (F01.1) Demencia multiinfarto. (F01.2) Demencia vascular subcortical. (F01.3) Demencia vascular mixta cortical y subcortical. (F01.8) Otra demencia vascular. (F01.9) Demencia vascular sin
30 especificación. (F02.0) Demencia en la enfermedad de Pick; (F02.1) Demencia en la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob; (F02.2) Demencia en la enfermedad de Huntington; (F02.3) Demencia en la enfermedad de Parkinson; (F02.4) Demencia en el VIH; (F03) Demencia sin especificar; (F04) Síndrome amnésico orgánico, no inducido por alcohol

o por otros psicotrópicos. En una realización aún más particular, la invención se refiere al uso de una combinación que comprende los compuestos de la invención en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer.

5

En una realización, el uso es preventivo y la administración de la composición farmacéutica que comprende los compuestos de la invención se lleva a cabo antes de la instauración completa del deterioro cognitivo. En otra realización, el uso es preventivo y la administración de la composición farmacéutica que comprende los compuestos de la invención se realiza durante la aparición de los primeros signos y/o síntomas de deterioro cognitivo. En otra realización, el uso es para el tratamiento y la administración de la composición farmacéutica que comprende los compuestos de la invención se realiza durante la aparición de los primeros signos y/o síntomas de deterioro cognitivo. En otra realización, el uso es para el tratamiento y la administración de la composición farmacéutica que comprende los compuestos de la invención se realiza después de la aparición de los primeros signos y/o síntomas de deterioro cognitivo.

Para su uso en terapia, los agonistas de GALR2 y/o NPY1R, o sus análogos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos, estarían preferiblemente en una forma sustancialmente pura o farmacéuticamente aceptable, es decir, con un nivel de pureza aceptable farmacéuticamente y excluyendo los aditivos farmacéuticos normales como diluyentes y vehículos, y sin incluir materiales considerados tóxicos a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza están preferiblemente por encima del 50%, más preferiblemente por encima del 70% y, aún, más preferiblemente por encima del 90%. En una realización preferida, son mayores del 95% en agonistas de GALR2 y/o NPY1R, o sus análogos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos.

En una realización, la presente invención se refiere al uso de una combinación que comprende un agonista de GALR2 y un agonista de NPY1R, o sus análogos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos, farmacéuticamente aceptables para la preparación de una composición farmacéutica. Preferiblemente, dicha composición

farmacéutica comprende agonistas de GALR2 y de NPY1R, o sus análogos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos, farmacéuticamente aceptables, aunque dicha composición farmacéutica pueda comprender opcionalmente vehículos y/o diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

5

En una realización de la invención, esta se refiere al uso de una combinación que comprende un agonista de GALR2 y un agonista de NPY1R, o sus análogos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos, farmacéuticamente aceptables de los mismos, para la preparación de una composición farmacéutica como se ha indicado anteriormente, adaptada para la administración simultánea de los ingredientes activos.

En particular, dichas composiciones farmacéuticas pueden contener los ingredientes activos dentro de la misma forma de dosificación unitaria, por ejemplo en la misma cápsula o comprimido. Dichas formas de dosificación unitarias pueden contener los ingredientes activos como una mezcla homogénea o en compartimentos separados de la forma de dosificación unitaria.

En otra realización, la presente invención se refiere al uso de una combinación que comprende un agonista de GALR2 y un agonista de NPY1R, o sus análogos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos, farmacéuticamente aceptables de los mismos, para la preparación de una composición farmacéutica como la anterior, adaptada para la administración secuencial de los ingredientes activos. En particular, dichas composiciones farmacéuticas pueden contener los ingredientes activos en formas de dosificación unitarias individuales (kit farmacéutico), por ejemplo comprimidos o cápsulas individuales que contengan cualquiera de los ingredientes activos. Estas formas de dosificación unitarias individuales pueden estar contenidas en el mismo recipiente o paquete, por ejemplo un blister.

La expresión “kit farmacéutico” empleada en el documento significa una composición farmacéutica que contiene cada uno de los ingredientes activos, pero en formas de dosificación unitarias individuales, y pudiendo estar dichos ingredientes activos empaquetados conjuntamente, por ejemplo
5 en un blister, o no, en cuyo caso la composición resulta del uso combinado de dichos ingredientes activos, entendiéndose por “uso combinado” la administración de los ingredientes activos de forma asociada entre sí pero no necesariamente de forma simultánea.

10 Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, se combina una cantidad apropiada de los principios activos, en forma de sal o en forma de base, en una mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable, que puede adquirir una gran variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas se encuentran deseablemente
15 en una forma de dosificación unitaria adecuada para administración por vía nasal, oral, rectal, percutánea o mediante inyección parenteral. Por ejemplo, al preparar las composiciones en forma de dosificación oral, puede emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y otros en el caso de las preparaciones líquidas orales como las
20 suspensiones, los jarabes, los elixires y las soluciones; o vehículos sólidos como almidones, azúcares, caolina, lubricantes, aglutinantes, disgregantes y similares en el caso de polvos, pastillas, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se utilizan, obviamente, vehículos
25 farmacéuticos sólidos.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en formas unitarias de dosificación para una administración fácil y uniformidad de dosis. Tal y como se usa en las especificaciones y reivindicaciones, la
30 forma de dosificación unitaria se refiere a unidades físicamente separadas y adecuadas como dosis unitarias, en la que cada unidad contiene una cantidad predeterminada de principio(s) activo(s) calculada para producir el efecto terapéutico

deseado en asociación con el vehículo farmacéutico necesario. Son ejemplos de estas formas unitarias de dosificación los comprimidos (incluyendo los comprimidos recubiertos o ranurados), las cápsulas, las pastillas, bolsas de polvos, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas de café, cucharadas soperas y otros, y múltiples segregados de los mismos.

El compuesto de la invención, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, puede administrarse antes, durante o después de la administración del otro principio activo, siempre que el tiempo entre la administración del compuesto de la invención, o la composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, y la administración del otro principio activo sea tal que se permite a los principios actuar sinérgicamente en el SNC. Cuando se prevea una administración simultánea, puede ser particularmente conveniente una composición que contenga tanto el compuesto de la invención como el otro principio activo. O el compuesto de la invención, o la composición farmacéutica que comprenda un compuesto de la invención, y el otro principio activo, pueden administrarse por separado en forma de composiciones adecuadas. Las composiciones pueden prepararse como se describe anteriormente.

La presente invención también comprende productos que contienen el compuesto de la invención, o la composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, y el otro principio activo como una preparación de combinación para un uso simultáneo, independiente o secuencial, separado o en la prevención o el tratamiento de los trastornos y efectos relacionados con alteraciones cognitivas, especialmente, la afectación de la memoria. Estos productos pueden comprender, por ejemplo, un kit que comprende formas de dosificación unitarias independientes que contienen el compuesto de la invención, o la composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, y formas de dosificación unitarias separadas que contienen el principio activo, todo ello contenido en el mismo paquete o envase, por ejemplo, en un blíster.

Tal y como se usa en esta invención, el término «principio activo», «sustancia activa», «sustancia o sustancia farmacéuticamente activa» o «principio farmacéuticamente

activo» significa cualquier componente que potencialmente proporcione un efecto farmacológico u otro tipo en el diagnóstico, curación, paliación, tratamiento o prevención de una enfermedad, o que afecte a la estructura o función del cuerpo humano o de otros animales.

5

El término incluye aquellos componentes que promueven un cambio químico en la fabricación del fármaco y que están presentes en él en una forma modificada y prevista que proporciona una actividad o efecto específico.

10 Por lo tanto, un primer aspecto de la presente invención hace referencia a un agonista de GALR2 en combinación con un agonista de NPYY1R, o análogos de los mismos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables, para ser usados en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia.

15

Una realización preferida de dicho primer aspecto de la presente invención hace referencia a un agonista de GALR2 en combinación con un agonista de NPYY1R, o análogos de los mismos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables, para ser usados en la prevención y/o el tratamiento
20 del deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer.

En una realización preferida de dicho primer aspecto, el agonista de GALR2 se selecciona entre los siguientes compuestos: AR-M 1896, galanina, galanina (2-29), M1145, galanina 2-11 amida, M1153, CYM2503, derivados o fragmentos funcionales
25 de dichos productos y el agonista de NPYY1R se selecciona entre los siguientes compuestos: neuropéptido Y, [Leu31,Pro34]-neuropéptido Y .

Un segundo aspecto de la presente invención hace referencia a una composición farmacéutica o kit que comprende una combinación de un agonista de GALR2 y un
30 agonista de NPYY1R, o análogos de los mismos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables, para ser usados en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia.

Una realización preferida de dicho segundo aspecto de la presente invención hace referencia a una composición farmacéutica o kit que comprende una combinación de un agonista de GALR2 y un agonista de NPY1R, o análogos de los mismos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables, para ser usados en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a demencia de la enfermedad de Alzheimer.

En una realización preferida de dicho segundo aspecto de la presente invención, los agonistas se administran de forma simultánea, formado parte de la misma forma de dosificación unitaria.

En otra realización preferida de dicho segundo aspecto de la presente invención, los agonistas se administran de forma secuencial, formado parte de formas de dosificación unitarias independientes.

Un tercer aspecto de la presente invención hace referencia a un método *in vitro* para la identificación y/o producción de compuestos útiles para la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia, preferentemente para la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer, que comprende: a) medir el nivel de expresión de GALR2 y NPY1R después de administrar la molécula candidata y b) donde, si después de administrar la molécula candidata, la expresión de GALR2 y NPY1R son activadas total o parcialmente de forma estadísticamente significativa respecto la expresión antes de administrar la molécula candidata, esto es indicativo de que la molécula candidata es efectiva en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia, preferentemente para la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer.

Un cuarto aspecto de la presente invención hace referencia a un método *in vitro* para monitorizar la respuesta a un tratamiento frente al deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia, preferentemente frente al deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer, que comprende: a) medir el nivel de

expresión de GALR2 y NPY1R después de administrar el tratamiento y b) donde, si después de administrar el tratamiento, el nivel de expresión de GALR2 y NPY1R es activado total o parcialmente de forma estadísticamente significativa respecto a la expresión antes de administrar el tratamiento, esto es indicativo de que el tratamiento es efectivo.

Un quinto aspecto de la presente invención hace referencia a un método para la prevención y/o tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia, preferentemente de la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer, que comprende la administración al paciente de una dosis terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende una combinación de agonistas de GALR2 y agonistas de NPY1R, preferentemente incluyendo excipientes farmacéuticamente aceptables. La expresión "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a un excipiente que se puede incluir opcionalmente en las composiciones de la invención y que no causa efectos toxicológicos adversos significativos para el paciente. Por "dosis o cantidad terapéuticamente efectiva" de la composición de la invención se entiende una dosis que cuando se administra provoca una respuesta terapéutica positiva en un sujeto que padece la enfermedad. La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, la edad y el estado general del sujeto, la gravedad de la afección que se está tratando, el modo de administración y similares. La cantidad "efectiva" apropiada puede ser determinada por un experto en la materia usando experimentación de rutina, en base a la información proporcionada en el estado de la técnica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Análisis de la protección neuronal mediada por GAL y un agonista de NPY1R (a) Imagen representativa que muestra la expresión de BDNF en las distintas zonas del hipocampo dorsal, como el giro dentado (GD), CA3 y CA1. (b) Gráfica que muestra el porcentaje de neuronas que expresan BDNF para los grupos tratados con LCRa (Control), GAL 3nmol, Y1 3nmol, GAL+Y1 y GAL+Y1+M871. Los datos se representan como porcentaje del grupo control (100%). ***P<0,001 versus aCSF y

GAL; $\#\#P < 0,001$ versus el resto de grupos; $\delta\delta\delta P < 0,001$ versus aCSF y GAL. Estadística realizada con ANOVA de una vía seguido por el test de comparación múltiple de Newman-Keuls ($n=4$ animales en cada grupo). (c-d) Microfotografías representativas que muestran células marcadas con BDNF en el GD. (Bregma: -3.5mm). Abreviaturas: LCRa = Líquido cefalorraquídeo artificial; GAL + Y1 = Coadministración de Galanina y [Leu31-Pro34]NPY; GAL + Y1 + M871 = Coadministración de GAL, [Leu31-Pro34]NPY y el antagonista de GALR2 (M871).

Figura 2. Estudio de la expresión del factor de supervivencia BCL-2 hipocampal mediado por GAL y un agonista de NPYY1R (a) Imagen representativa que muestra la expresión de BCL-2 en las distintas zonas del hipocampo dorsal, como el giro dentado (GD), CA3 y CA1. (b) Gráfica que muestra el porcentaje de neuronas que expresan BCL-2 para los grupos tratados con LCRa (Control), GAL 3nmol, Y1 3nmol, GAL+Y1 y GAL+Y1+M871. Los datos se representan como porcentaje del grupo control (100%). $**P < 0,01$ versus aCSF y GAL; $\#\#P < 0,01$ versus el resto de grupos; $\delta\delta P < 0,01$ versus aCSF y GAL. Estadística realizada con ANOVA de una vía seguido por el test de comparación múltiple de Newman-Keuls ($n=4$ animales en cada grupo). (c-d) Microfotografías representativas que muestran células marcadas con BCL-2 en el GD. (Bregma: -3.5mm). Las flechas indican ejemplos de agrupaciones de células marcadas. Abreviaturas: LCRa = Líquido cefalorraquídeo artificial; GAL + Y1 = Coadministración de Galanina y [Leu31-Pro34]NPY; GAL + Y1 + M871 = Coadministración de GAL, [Leu31-Pro34]NPY y el antagonista de GALR2 (M871).

Figura 3. Detección de complejos heteroreceptores GALR2/NPYY1R con el ensayo de ligazón por proximidad (ELP) en el hipocampo dorsal de rata. (a) Imagen representativa que muestra la expresión de complejos heteroreceptores GALR2/NPYY1R en las distintas zonas del hipocampo dorsal, como el giro dentado (GD), CA3 y CA1. Círculos rojos: señales positivas con ELP. Círculos azules: señales negativas con ELP. (Bregma: -3,1 mm). (b) Gráfica que muestra el porcentaje de señales positivas con ELP por núcleo y por campo muestral obtenidas por un experimentador ciego a las condiciones experimentales. $*P < 0.05$ Y1 versus aCSF y GAL. $\#P < 0.05$ Y1 versus GAL+Y1. $\diamond\diamond\diamond P < 0.001$ GAL+Y1 versus aCSF y GAL. $\oslash P < 0.05$ GAL+Y1 versus GAL+Y1+M871 de acuerdo con ANOVA de una vía seguido

por el test de comparación múltiple de Newman-Keuls. Los datos se muestran como la Media±Error estándar y cada punto en la gráfica representa los resultados de ratas individuales de múltiples fotografías analizadas (n=4 ratas por grupo). (c-f) Microfotografías representativas de la densidad de círculos positivos en ELP en el GD.

- 5 Las flechas blancas señalan las agrupaciones de ELP. Los núcleos se muestran de color azul con DAPI. Abreviaturas: LCRa = Líquido cefalorraquídeo artificial; GAL + Y1 = Coadministración de Galanina y [Leu31-Pro34]NPY; GAL + Y1 + M871 = Coadministración de GAL, [Leu31-Pro34]NPY y el antagonista de GALR2 (M871).
- 10 **Figura 4.** Detección de complejos heteroreceptores GALR2/NPY1R con el ensayo de ligazón por proximidad (ELP) en cultivos de neuronas de hipocampo (a) Gráfica que muestra el porcentaje de señales positivas con ELP por núcleo y por campo muestral obtenidas por un experimentador blindado a las condiciones experimentales. ***P<0.001 Y1 versus aCSF y GAL. $\neq \neq \neq$ P<0.001 Y1 versus GAL+Y1. $\diamond \diamond \diamond$ P<0.001
- 15 GAL+Y1 versus aCSF y GAL. $\oslash \oslash \oslash$ P<0.001 GAL+Y1 versus GAL+Y1+M871 de acuerdo con ANOVA de una vía seguido por el test de comparación múltiple de Newman-Keuls. Los datos se muestran como la Media±Error estándar de múltiples microfotografías analizadas. (b,c) Microfotografías representativas de la densidad de círculos positivos en ELP. Círculos rojos: señales positivas con ELP. Las flechas
- 20 blancas señalan las agrupaciones de ELP. Los núcleos se muestran de color azul con DAPI. Abreviaturas: LCRa = Líquido cefalorraquídeo artificial; GAL + Y1 = Coadministración de Galanina y [Leu31-Pro34]NPY; GAL + Y1 + M871 = Coadministración de GAL, [Leu31-Pro34]NPY y el antagonista de GALR2 (M871).
- 25 **Figura 5.** Valoración de la vía intracelular de crecimiento celular MAPK en cultivos neuronales de hipocampo mediante el nivel de inducción de expresión de un plásmido experimental que integra el gen de la luciferasa de luciérnaga como reportero génico (pGL4-SRE-luc2p). Control: 50ng de plásmido de control interno expresando luciferasa de Renilla (phRG-B). Los datos se muestran como la Media±Error estándar
- 30 de tres experimentos independientes realizados en triplicado. Se emplearon las siguientes concentraciones: M1145, 100 nM; M871, 1 μ M; [Leu31-Pro34]NPY, 100 nM; BIBP3226, 1 μ M; ***P<0.001 M1145 versus Control y M1145+M871. $\neq \neq \neq$ P<0.001 Y1 versus Control y Y1+BIBP3226. $\diamond \diamond \diamond$ P<0.001 M1145+Y1 versus el resto de

grupos. El análisis estadístico se realizó de acuerdo con ANOVA de una vía seguido por el test de comparación múltiple de Newman-Keuls.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

5

La invención anteriormente mencionada se detalla adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitantes y meramente ilustrativos.

Material y métodos

10

Sujetos: Ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, obtenidos de CRIFFA, Barcelona. (200-250 gr.- 6-8 semanas). Los animales se estabulan con comida y agua disponibles libremente (ad libitum). Los animales se mantienen bajo temperatura controlada (20°C), humedad (55-60%) y ciclos de luz / día invertidos (12:12 h). El personal capacitado bajo la supervisión veterinaria ha brindado los cuidados pertinentes a los animales, y todos los experimentos están aprobados por el Comité Ético de Experimentación Animal de la Universidad de Málaga de acuerdo con la Directiva Europea (2010/63/EU) y la Directiva Española (Real Decreto 53/2013). Las ratas se empezaron a utilizar tras una aclimatación en el animalario de 1 semana.

20

Cánulas intracerebrales: Se implantó una cánula guía crónica de acero inoxidable del calibre 22 (Plastics One In) en el ventrículo cerebral lateral derecho a las ratas anestesiadas por vía intraperitoneal con Equitesina (3,3 ml/Kg). Se utilizaron las siguientes coordenadas estereotáxicas: + 1,4 mm lateral, -1 mm posterior al bregma, y 3.6 mm por debajo de la superficie del cráneo. Después de la cirugía, los animales se estabularon individualmente y se recuperaron durante 7 días. Este método de canulación y cuidado postquirúrgico se ha estandarizado previamente en nuestro laboratorio (Narváez et al., 2018).

25

Administración intracerebroventricular de péptidos: Las ratas canuladas se asignaron al azar a diferentes grupos. Los péptidos estaban recién preparados, disueltos en Líquido cefalorraquídeo artificial (LCRa) e inyectados en el ventrículo lateral derecho. El volumen total fue de 5 µl por inyección, con un tiempo de infusión

30

de 1 minuto. El agonista del NPY₁R [Leu³¹, Pro³⁴] NPY (K_i = 0.39 nM para NPY₁R) y el agonista GALR2 (M1145) (K_i = 13.1 y 420 nM para GALR2 y GALR1 respectivamente) se obtuvo de Tocris Bioscience (Bristol, Reino Unido). Estos procedimientos de inyecciones intracerebroventriculares (icv) y preparación de LCRa ya se han estandarizado en nuestro laboratorio (Narváez et al., 2018).

Colección de muestras: Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (Mebumal; 100 mg / kg, i.p.), se perfundieron intracardiamente con Paraformaldehído al 4% (wt / vol, Sigma), y los cerebros se extrajeron para la inmunotinción. Se comprobó la colocación correcta de la cánula tras las inyecciones icv cortando el cerebro en el plano coronal en un criostato (HM550, Microm International). Los cerebros se cortaron en un plano coronal y se procesaron para la inmunotinción usando protocolos publicados previamente (Narváez et al., 2018).

Inmunohistoquímica: Se incubaron las secciones cerebrales en suspensión (cortadas de forma coronal en niveles de Bregma correspondientes al hipocampo dorsal y ventral: de -2.16 a -4.20) durante la noche con los siguientes anticuerpos primarios diluidos a 4°C: BDNF (1: 1000, Abcam, EE. UU.), BCL-2 (1: 500; Santa-Cruz Biotech, EE. UU.). El procedimiento se realizó utilizando el método de la peroxidasa, en series de una cada seis secciones, como previamente se ha publicado (Vega-Rivera et al., 2015). Todas las células marcadas con BDNF y BCL-2 se contaron a través de la extensión rostro-caudal del hipocampo, usando un microscopio óptico (Leica, Alemania). En el giro dentado del hipocampo, la cuantificación de las células marcadas con BDNF y BCL-2 se limitó a la capa de células granulares (CG) y a la zona subgranular (ZSG) como se ha descrito previamente (Vega-Rivera et al., 2015; Narváez et al., 2018).

Ensayo de ligazón por proximidad *in situ* (ELP): El Ensayo de ligazón por proximidad (ELP) *in situ* se realizó como se ha descrito previamente (Narvaez et al. 2020). Las secciones de cerebro en suspensión se incubaron con soluciones de bloqueo (suero de cabra al 5%) y de permeabilización (tritón X100 al 0,3% en PBS) durante 60 minutos cada una. Los anticuerpos primarios dirigidos contra GALR2 (conejo, Alomone Lab, 1: 100) y NPY₁R (cabra, sc-21992 Santa Cruz Biotechnology

INC, CA, 1: 200) se incubaron durante 24h. a 4°C. La detección de la señal de ELP se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante (kit de detección de ELP Duolink *in situ*; Sigma) con sondas ELP PLUS o MINUS para anticuerpos de conejo o cabra. Las secciones se montaron en portaobjetos con medio de montaje fluorescente (Dako) que contiene DAPI (1:200), para teñir los núcleos con color azul. Las señales de ELP se visualizaron y cuantificaron utilizando un microscopio confocal TCS-SL (Leica) y el programa informático Duolink Image Tool.

Ejemplo 1. Análisis de la protección neuronal mediada por GAL y el agonista NPYY1R

En la figura 1 se observa como la coadministración de GAL y del agonista de NPYY1R aumenta la expresión del factor protector neuronal BDNF en hipocampo dorsal mediada por NPYY1R. Además, se demuestra que estos efectos están mediados por GALR2, ya que se bloquean en presencia del antagonista específico GALR2, M871.

En las figuras 1(c) y 1(d) se observa como las células marcadas con BDNF se localizan en el giro dentado (GD), entre la capa de células granulares (Gcl) y el hilus (H). Además, se observa que la coadministración de ambos péptidos, GAL y el agonista de NPYY1R, aumenta la detección del marcaje con BDNF comparado con el grupo control.

Ejemplo 2. Estudio de la expresión del factor de supervivencia BCL-2 hipocampal mediado por GAL y el agonista NPYY1R

En la figura 2 se muestra que la coadministración de GAL y del agonista de NPYY1R aumenta la expresión del factor de supervivencia BCL-2 en las distintas zonas del hipocampo dorsal, como el giro dentado (GD), CA3 y CA1. Además, se demuestra que estos efectos están mediados por GALR2, ya que se bloquean en presencia del antagonista específico GALR2, M871.

En las figuras 2(c) y 2(d) se observa como las células marcadas con BCL2 se localizan en el giro dentado, entre la capa de células granulares (Gcl) y el hilus (H). Además,

se observa que la coadministración de ambos péptidos, GAL y el agonista de NPY1R, aumenta la detección del marcaje con Bcl2 en la Sgz comparado con el grupo control.

5 **Ejemplo 3. Estudio de complejos heteroreceptores GALR2/NPY1R en el hipocampo dorsal de la rata.**

Se han detectado complejos heteroreceptores GALR2/NPY1R con el ensayo de ligazón por proximidad (ELP) en el hipocampo dorsal.

10

En la figura 3 se muestra un diagrama con la presencia de señales positivas con ELP (círculos rojos) en las distintas zonas del hipocampo dorsal, como el giro dentado (GD), CA3 y CA1 y la ausencia de señales específicas (círculos azules) en la capa molecular del GD y en el cuerpo calloso.

15

En la figura 3(b) se observa como la coadministración de GAL y del agonista de NPY1R aumenta los complejos GALR2/NPY1R. Además, se observa que estos efectos están mediados por GALR2, ya que se bloquean en presencia del antagonista específico GALR2, M871.

20

Asimismo, en las figuras 3(c) - 3(f) se observa un aumento significativo de la densidad de los círculos positivos en ELP, correspondiente a la presencia de complejos GALR2/NPY1R, tras la coinyección de GAL y del agonista NPY1 comparado con el grupo control.

25

Ejemplo 4. Estudio de complejos heteroreceptores GALR2/NPY1R en cultivos de neuronas de hipocampo.

Se han detectado complejos heteroreceptores GALR2/NPY1R con el ensayo de ligazón por proximidad (ELP) en cultivos de neuronas de hipocampo.

30

Las neuronas hipocampales mostraron un aumento significativo de los complejos GALR2/NPY1R (Círculos ELP) tras la coadministración de GAL y del agonista de

NPYY1R [Figura 4 (a)]. Además, se observa que estos efectos están mediados por GALR2, ya que se bloquean en presencia del antagonista específico GALR2, M871.

En las figuras 4(b) y 4(c) se observa un aumento significativo de la densidad de los círculos positivos en ELP, correspondiente a la presencia de complejos GALR2/NPYY1R, tras el tratamiento con GAL y con el agonista NPYY1 comparado con el grupo control.

Ejemplo 5. Valoración de la vía intracelular de crecimiento celular MAPK en cultivos neuronales de hipocampo mediante un reportero génico.

Cultivos neuronales de hipocampo de rata se cotransfectaron con 1 µg de luciferasa de luciérnaga expresando el plásmido experimental (pGL4-SRE-luc2p) y 50ng del plásmido de control interno expresando luciferasa de Renilla (phRG-B). Tras 4 horas de incubación con los diferentes agonistas o antagonistas se midió la actividad de la luciferasa., observándose como la coadministración de M1145 y el agonista NPYY1R potencia la expresión de SRE (Figura 5).

Referencias

Narváez M, Andrade-Talavera Y, Valladolid-Acebes I, Fredriksson M, Siegele P, Hernandez-Sosa A, Fisahn A, Fuxe K, Borroto-Escuela DO. Existence of FGFR1-5-HT1AR heteroreceptor complexes in hippocampal astrocytes. Putative link to 5-HT and FGF2 modulation of hippocampal gamma oscillations. *Neuropharmacology*. 2020 Jun 15;170:108070. doi: 10.1016/j.neuropharm.2020.108070. Epub 2020 Mar 27.

Narváez, M., Borroto-Escuela, D. O., Santín, L, Millón, C., Gago, B., Flores- Burgess, A., Fuxe K (2018a). A novel integrative mechanism in anxiolytic behavior induced by Galanin 2/Neuropeptide Y Y1 receptor interactions on the Amygdala in rats. *Front. Cell. Neurosci*. Accepted: 13 Apr 2018. doi: 10.3389/fncel.2018.00119/

Vega-Rivera NM, Fernández-Guasti A, Ramírez-Rodríguez G, Estrada-Camarena E. Effect of sub-optimal doses of fluoxetine plus estradiol on antidepressant-like behavior

and hippocampal neurogenesis in ovariectomized rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2015 Jul;57:113-24.

REIVINDICACIONES

1. Agonista de GALR2 en combinación con un agonista de NPY1R, o análogos de los mismos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables, para ser usados en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia.
2. Agonista de GALR2 en combinación con un agonista de NPY1R para ser usados según la reivindicación 1 en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer.
3. Agonista de GALR2 en combinación con un agonista de NPY1R para ser usados según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde
 - el agonista de GALR2 se selecciona entre los siguientes compuestos: AR-M 1896, galanina, galanina (2-29), M1145, galanina 2-11 amida, M1153, CYM2503, derivados o fragmentos funcionales de dichos productos; y
 - el agonista de NPY1R se selecciona de entre los siguientes compuestos: neuropéptido Y, [Leu31,Pro34]-neuropéptido Y .
4. Composición farmacéutica o kit que comprende un agonista de GALR2 y un agonista de NPY1R, o análogos de los mismos, o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables, para ser usados en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia.
5. Composición farmacéutica o kit para ser usados según la reivindicación 4 en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a demencia de la enfermedad de Alzheimer.
6. Composición farmacéutica o kit para ser usados según cualquiera de las reivindicaciones 4 o 5 donde los agonistas se administran de forma simultánea.
7. Composición farmacéutica o kit para ser usados según la reivindicación 6 donde los agonistas se encuentran en la misma forma de dosificación unitaria.

8. Composición farmacéutica o kit para ser usados según cualquiera de las reivindicaciones 4 o 5 donde los agonistas se administran de forma secuencial.

5 9. Composición farmacéutica o kit para ser usados según la reivindicación 8 donde los agonistas se encuentran en formas de dosificación unitarias independientes.

10. Método *in vitro* para la identificación y/o producción de compuestos útiles para la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia que comprende:

(a) medir el nivel de expresión de GALR2 y NPY1R después de administrar la molécula candidata, y

15 (b) donde, si después de administrar la molécula candidata, la expresión de GALR2 y NPY1R son activadas total o parcialmente de forma estadísticamente significativa respecto la expresión antes de administrar la molécula candidata, esto es indicativo de que la molécula candidata es efectiva en la prevención y/o el tratamiento del deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia.

20 11. Método *in vitro* según la reivindicación 10 donde el deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia es el deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer.

25 12. Método *in vitro* para monitorizar la respuesta a un tratamiento frente al deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia que comprende:

(a) medir el nivel de expresión de GALR2 y NPY1R después de administrar el tratamiento, y

30 (b) donde, si después de administrar el tratamiento, el nivel de expresión de GALR2 y NPY1R es activado total o parcialmente de forma estadísticamente significativa respecto la expresión antes de administrar el tratamiento, esto es indicativo de que el tratamiento es efectivo.

13. Método *in vitro* según la reivindicación 12 donde el deterioro cognitivo asociado a síndromes de demencia es el deterioro cognitivo asociado a la demencia en la enfermedad de Alzheimer.

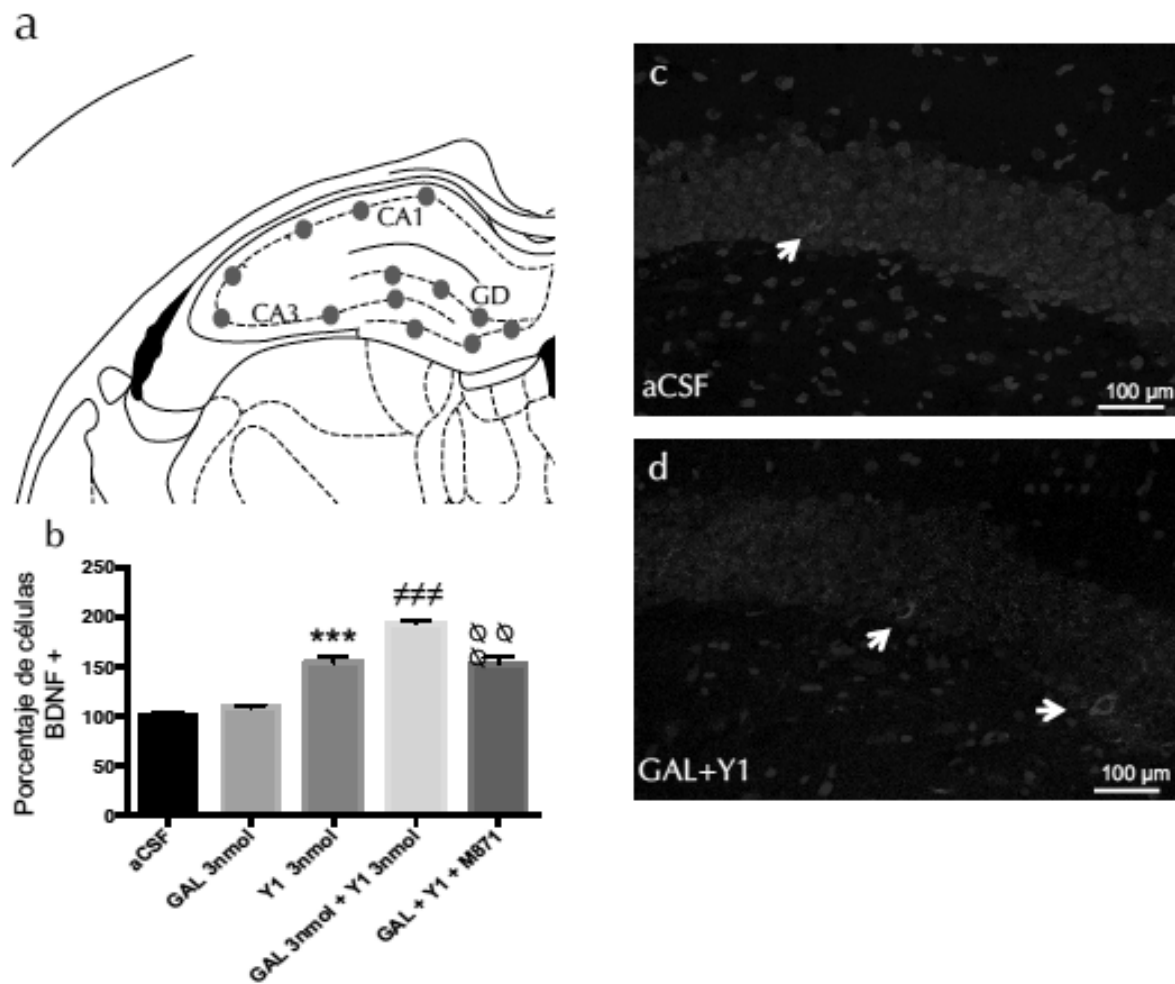


Figura 1

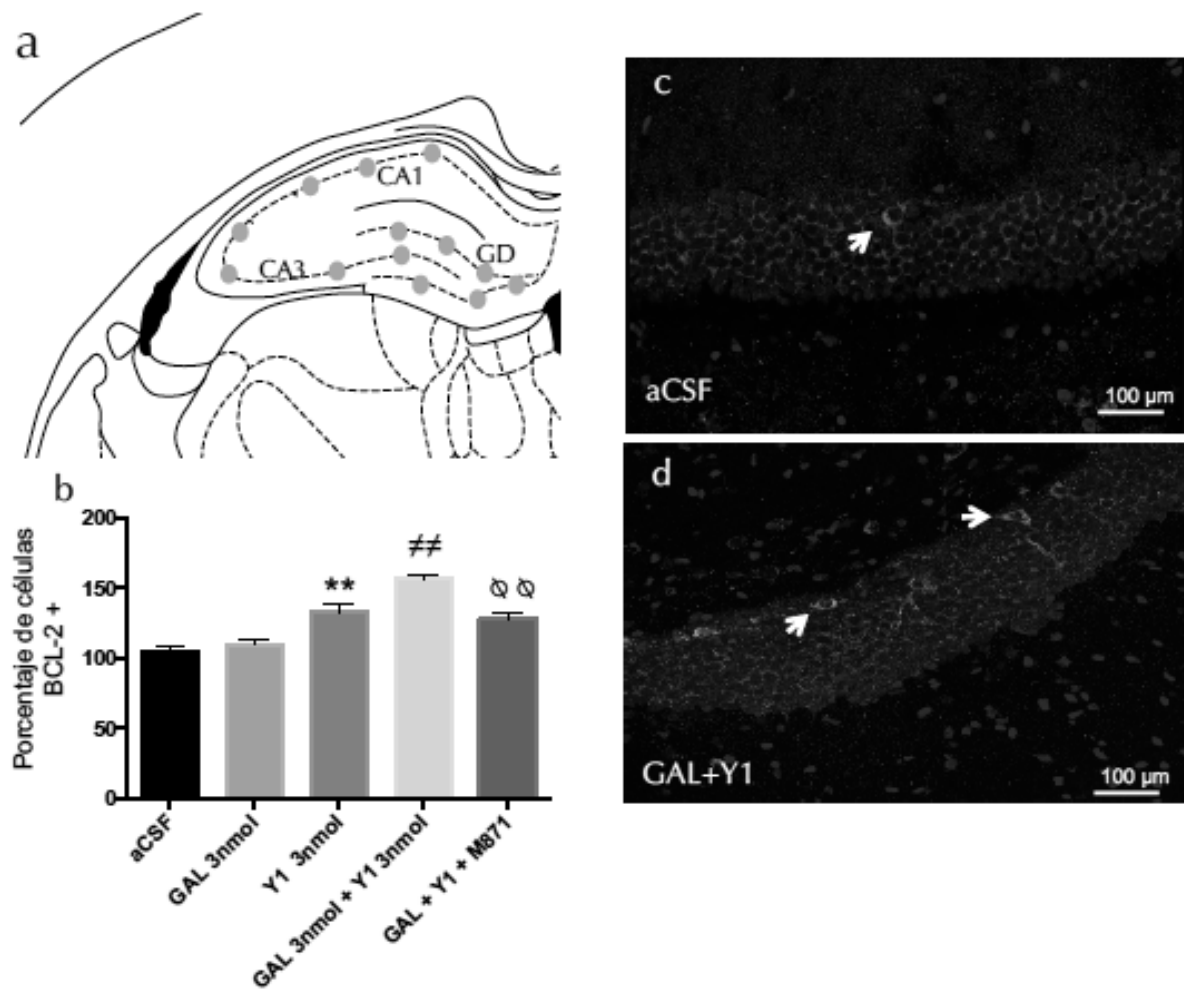


Figura 2

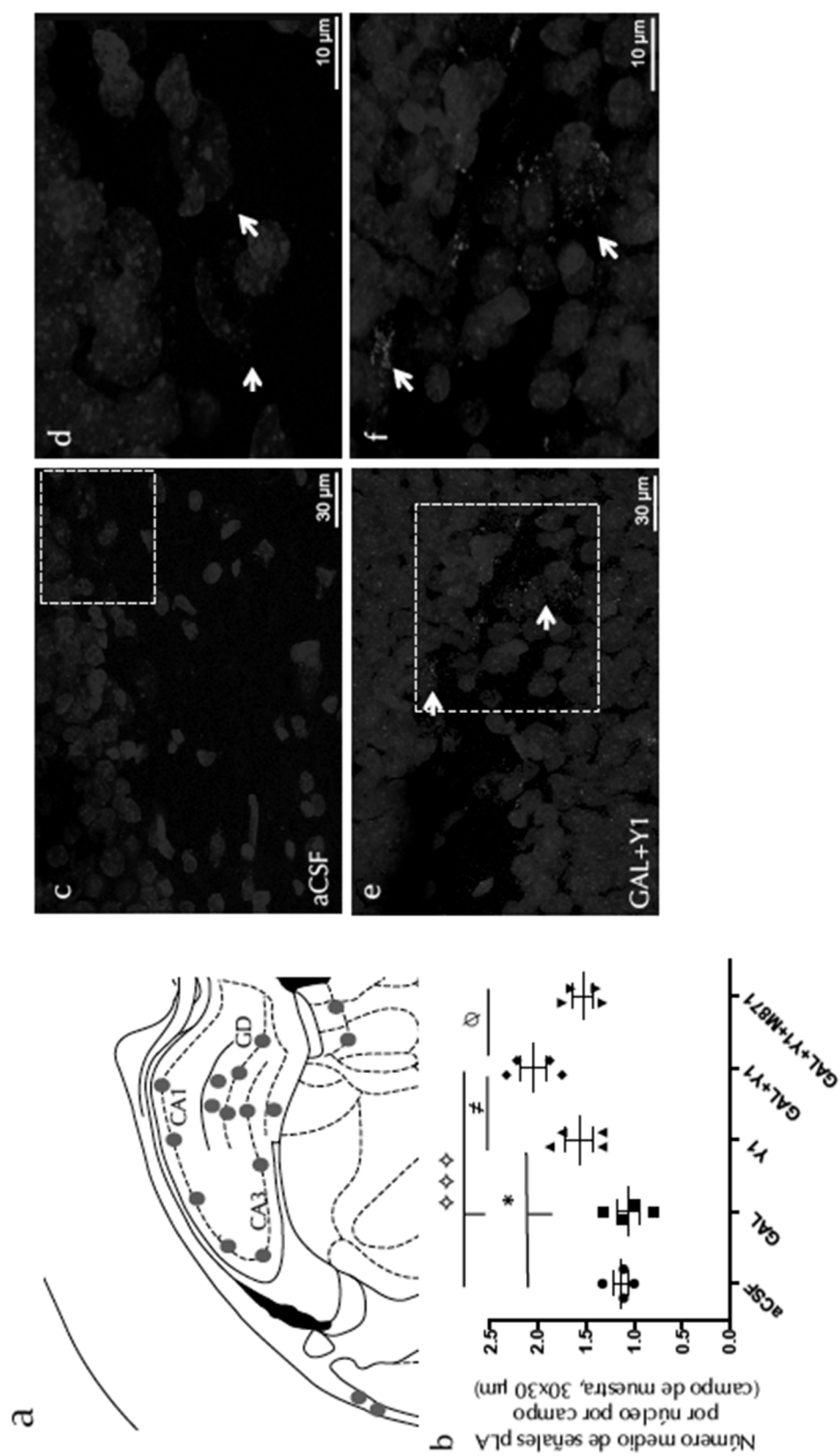


Figura 3

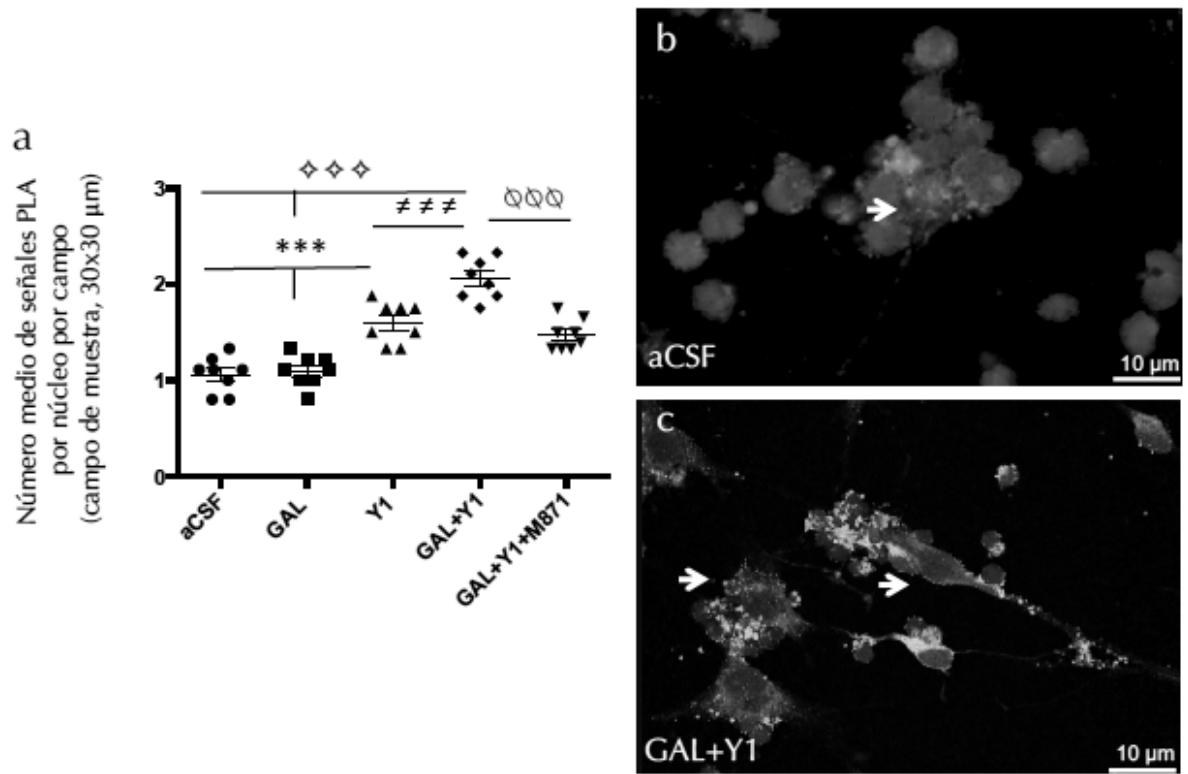


Figura 4

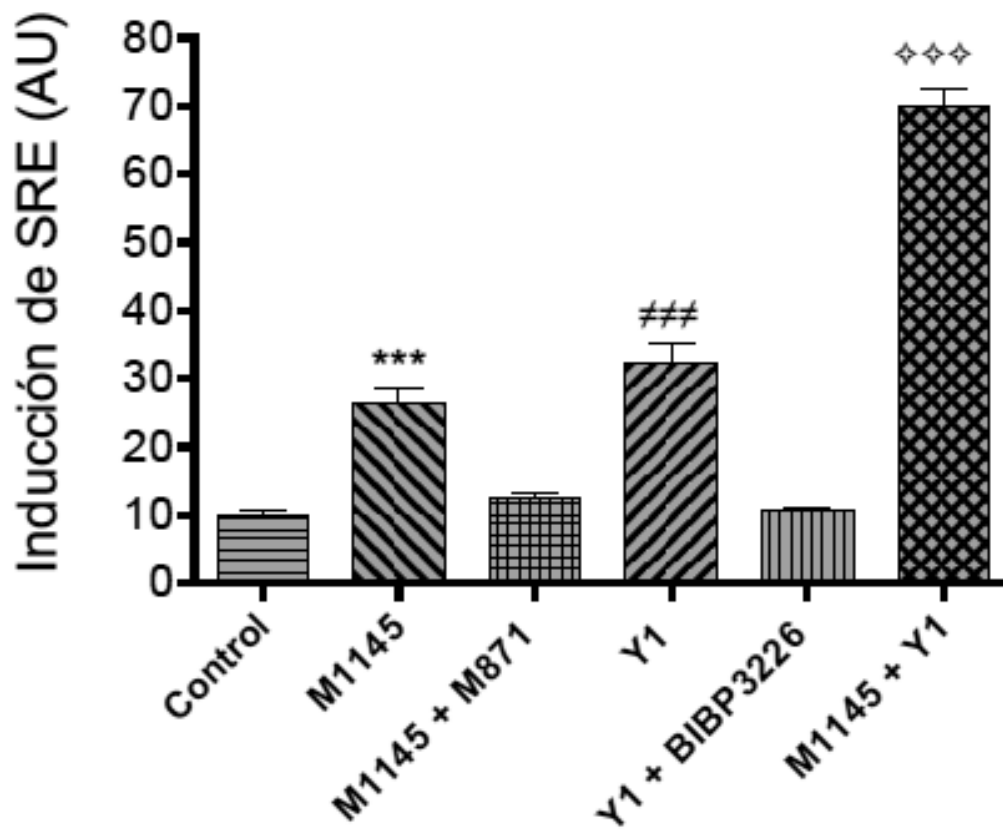


Figura 5



- ②① N.º solicitud: 202030533
②② Fecha de presentación de la solicitud: 04.06.2020
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K38/17** (2006.01)
A61P25/28 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	WO 2017085350 A1 (UNIV MALAGA) 26/05/2017, todo el documento	1-9
Y	BORBÉLY E. et al. Neuropeptides in learning and memory. Neuropeptides, 24/10/2013, Vol. 47, Páginas 439-450, todo el documento	1-9
Y	RANGANI R. J. et al. Nicotine evoked improvement in learning and memory is mediated through NPY Y1 receptors in rat model of Alzheimer's disease. Peptides, 06/01/2012, Vol. 33, Páginas 317-328, todo el documento	1-9
Y	LI L. et al. Exogenous galanin attenuates spatial memory impairment and decreases hippocampal beta-amyloid levels in rat model of Alzheimer's disease. International Journal of Neuroscience, 2013, Vol. 123, Nº 11, Páginas 759-765, todo el documento	1-9
A	DÍAZ-CABIALE Z. et al. Galanin receptor/Neuropeptide Y receptor interactions in the dorsal raphe nucleus of the rat. Neuropharmacology, 2011, Vol. 61, Páginas 80-86, todo el documento	1-9
A	WO 2012042455 A1 (ACTELION PHARM LTD) 05/04/2012, todo el documento	1-9

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☐ para todas las reivindicaciones

☒ para las reivindicaciones nº: 1-9

Fecha de realización del informe
29.09.2020

Examinador
M. Cumbreño Galindo

Página
1/2

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, MEDLINE, NPL, EMBASE, BIOSIS