

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036742**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.12.15

(21) Номер заявки
201200507

(22) Дата подачи заявки
2010.09.22

(51) Int. Cl. **A61K 31/198** (2006.01)
A61P 25/14 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ (R)-3-(6-р-ТОЛИЛ-ПИРИДИН-3-ИЛОКСИ)-1-АЗА-БИЦИКЛО[2.2.2]ОКТАНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ, ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ИЛИ ОТСРОЧКИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ДИСКИНЕЗИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ЛЕЧЕНИЕМ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА АГОНИСТОМ ДОПАМИНА

(31) **61/244,658**

(32) **2009.09.22**

(33) **US**

(43) **2012.10.30**

(86) **PCT/EP2010/063946**

(87) **WO 2011/036167 2011.03.31**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НОВАРТИС АГ (CH)

(72) Изобретатель:
**Ди-Паоло Тересе (CA), Фойербак
Доминик, Гомеш-Мансила Бальтазар
(CH), Джонс Доналд (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н., Павловский А.Н. (RU)

(56) **WO-A1-2006048294
EP-A1-1977746**

QUIK MARYKA ET AL.: "Nicotine reduces levodopa-induced dyskinesias in lesioned monkeys" ANNALS OF NEUROLOGY, vol. 62, no. 6, 1 December 2007 (2007-12-01), pages 588-596, XP002489587 JOHN WILEY AND SONS, BOSTON, US ISSN: 0364-5134 DOI: 10.1002/ANA.21203 the whole document

WO-A1-2006067611

US-A1-2007254921

FINBERG J.P.M. ET AL.: "Cardiovascular responses to combined treatment with selective monoamine oxidase type B inhibitors and L-DOPA in the rat" BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol. 149, no. 6, November 2006 (2006-11), pages 647-656, XP002608662 ISSN: 0007-1188

US-A1-2003073715

WO-A2-02100858

WO-A2-2007110730

WO-A2-2004108668

WO-A1-2006051394

QUIK M. ET AL.: "nAChR agonists reduce L-dopa-induced dyskinesias in parkinsonian rats" BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, vol. 78, no. 7, October 2009 (2009-10), page 922, XP002611505 SYMPOSIUM ON NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTORS AS THERAPEUTIC TARGETS; CHICAGO, IL, USA; ISSN: 0006-2952 the whole document

(57) Изобретение касается применения активатора никотинового ацетилхолинового рецептора $\alpha 7$ (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октана в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли для получения лекарственного средства для лечения, предупреждения или отсрочки прогрессирования дискинезии, ассоциированной с лечением болезни Паркинсона агонистом допамина. Агонист допамина может представлять собой леводопу. Изобретение также относится к комбинированному препарату для лечения болезни Паркинсона, содержащему (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октан в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли и леводопу для одновременного, раздельного или последовательного применения.

B1**036742****036742****B1**

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим применениям активаторов никотинового ацетилхолинового рецептора $\alpha 7$ ($\alpha 7$ -nAChR), т.е. агонистов или положительных аллостерических модуляторов $\alpha 7$ -nAChR.

Болезнь Паркинсона (БП) - хроническое и прогрессирующее дегенеративное расстройство центральной нервной системы, которое часто нарушает у больного двигательные навыки и речь. Признаки болезни Паркинсона варьируют и включают один или несколько из числа следующих: тремор, ригидность, брадикинезию, акинегию, нарушения походки и осанки, неустойчивую походку, нарушения речи и глотания и когнитивное нарушение (например, потерю памяти, слабоумие и замедленную реакцию). Полагают, что БП является прямым результатом утраты клеток, вырабатывающих допамин, в черной субстанции (substantia nigra) мозга. Только в США ежегодно диагностируют более 60000 новых случаев заболевания БП.

Наиболее распространенным лечением БП является терапия на основе агонистов допамина, например, введением L-допы (леводопы) в комбинации с ингибитором декарбоксилазы (например, карбидопы). Однако у многих пациентов длительное лечение агонистом допамина вызывает непроизвольные движения (дискинезию), которые являются существенным побочным эффектом (см. публикации: Fabbrini и др., Movement Disorders, 22(10), 2007, сс. 1379-1389; Konitsiotis, Expert Opin Investig Drugs, 14(4), 2005, сс. 377-392; Brown и др., IDrugs, 5(5), 2002, сс. 454-468). В связи со сказанным существует потребность в эффективных режимах для подавления или лечения дискинезии, которые могут проводиться без побочного воздействия анти-БП лечения.

Соединения описаны в качестве агонистов $\alpha 7$ -nAChR или положительных аллостерических модуляторов $\alpha 7$ -nAChR, описанных, например, в WO 2001/85727, WO 2004/022556, WO 2005/118535, WO 2005/123732, WO 2006/005608, WO 2007/045478, WO 2007/068476, WO 2007/068475 и в работе Haydar и др. (Current Topics in Medicinal Chemistry, 10, 2010, сс. 144-152).

Установлено, что агонисты $\alpha 7$ -nAChR или положительные аллостерические модуляторы $\alpha 7$ -nAChR могут применяться для лечения, предупреждения или отсрочки прогрессирования дискинезии, ассоциированной с лечением БП агонистом допамина. В частности, было установлено, что агонисты $\alpha 7$ -nAChR или положительные аллостерические модуляторы $\alpha 7$ -nAChR могут применяться для лечения, предупреждения или отсрочки прогрессирования указанной дискинезии, когда терапия включает введение лево-допы.

Соответственно, первая задача, рассматриваемая в настоящем изобретении, касается применения агониста $\alpha 7$ -nAChR для лечения (терапевтического или профилактического), предупреждения или отсрочки прогрессирования дискинезии, ассоциированной с лечением болезни Паркинсона агонистом допамина.

Один из вариантов осуществления указанной первой задачи, решаемой в настоящем изобретении, касается применения лево-допы в качестве агониста допамина.

Другая задача, решаемая в настоящем изобретении, относится к комбинированному препарату для лечения болезни Паркинсона, содержащему агонист $\alpha 7$ -nAChR, который представляет собой (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октан в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли и леводопу для одновременного, раздельного или последовательного применения.

Агонист никотинового ацетилхолинового рецептора $\alpha 7$ ($\alpha 7$ -nAChR).

В контексте настоящего изобретения понятие "агонист $\alpha 7$ -nAChR" означает соединение, которое связывается с рецептором, включающим субъединицу $\alpha 7$ -nAChR, in vivo и in vitro и активирует рецептор для осуществления его физиологической функции. Активирование может быть измерено методом, описанным в WO 2001/85727, т.е. с помощью анализа функционального сродства по гомеомерному никотиновому ацетилхолиновому рецептору $\alpha 7$ ($\alpha 7$ -nAChR), выполненного с линией гипофизарных клеток крысы, стабильно экспрессирующей $\alpha 7$ -nAChR. В качестве показателя рассматривают поступление кальция при стимуляции рецептора при сравнении с эпибатином. "Агонисты $\alpha 7$ -nAChR" по настоящему изобретению обычно индуцируют поступление кальция, составляющее по меньшей мере 50% от максимального поступления, вызванного эпибатином, с величиной EC_{50} составляющей по меньшей мере 1 мкМ; предпочтительные агонисты индуцируют приток кальция, составляющий по меньшей мере 75% от максимального поступления, вызванного эпибатином, с величиной EC_{50} , составляющей по меньшей мере 400 нМ; более предпочтительные агонисты индуцируют поступление кальция, составляющее по меньшей мере 85% от максимального притока, вызванного эпибатином, с величиной EC_{50} , составляющей по меньшей мере 50 нМ.

В особенности предпочтительные агонисты $\alpha 7$ -nAChR должны хорошо всасываться в желудочно-кишечном тракте, обладать метаболической стабильностью и проявлять благоприятные фармакокинетические свойства.

Другие предпочтительные агонисты $\alpha 7$ -nAChR сильно связываются in vivo с рецепторами $\alpha 7$ -nAChR, в то же время проявляя слабое сродство с другими рецепторами, особенно с другими рецепторами nAChR, например $\alpha 4\beta 2$ nAChR, мускариновыми ацетилхолиновыми рецепторами, например с рецеп-

тором М1 и/или 5-НТ₃.

Другие предпочтительные агонисты $\alpha 7$ -nAChR эффективно преодолевают гематоэнцефалический барьер.

Предпочтительные агонисты $\alpha 7$ -nAChR должны быть нетоксичными и проявлять незначительные побочные эффекты.

Кроме того, предпочтительный агонист $\alpha 7$ -nAChR должен быть в стабильной негигроскопичной и легко перерабатываемой физической форме.

Согласно настоящему изобретению агонист $\alpha 7$ -nAChR избирателен в отношении рецептора, включающего субъединицу $\alpha 7$ -nAChR, поскольку можно ожидать, такой агонист вызывает меньше побочных эффектов по сравнению с неизбирательным агонистом у подвергаемого лечению субъекта. Агонист, являющийся избирательным в отношении рецептора, включающего субъединицу $\alpha 7$ -nAChR, обладает функциональным сродством к такому рецептору в гораздо большей степени, например, связывающее сродство по величине EC₅₀ больше по меньшей мере в 10 раз, предпочтительно по меньшей мере в 20 раз, более предпочтительно по меньшей мере в 50 раз по сравнению с другим никотиновым ацетилхолиновым рецептором. Для оценки сродства агонистов $\alpha 7$ -nAChR по настоящему изобретению с другими никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами может применяться метод, описанный в WO 2001/85727, т.е. для оценки сродства нейронального рецептора человека $\alpha 4\beta 2$ nAChR проводят исходный функциональный анализ, используя линию эмбриональных клеток почки человека, стабильно экспрессирующую подтип $\alpha 4\beta 2$ человека, и для оценки действия соединений по настоящему изобретению на "ганглиозный подтип" и "мышечный тип" никотиновых рецепторов сходные функциональные анализы проводят с линией эмбриональных клеток почки человека, стабильно экспрессирующей "ганглиозный подтип" человека, или линией клеток, эндогенно экспрессирующей "мышечный тип" никотиновых рецепторов человека.

За последние 15 лет усилия были сосредоточены на разработке избирательных агонистов $\alpha 7$ -nAChR, приведшие к открытию многих разных хемотипов, проявляющих указанное избирательное действие. Эти усилия суммированы в обзоре Horenstein и др., Mol. Pharmacol., 74, 2008, сс. 1496-1511, в котором описано по меньшей мере 9 разных семейств агонистов $\alpha 7$ -nAChR, в большинстве которых обнаружены избирательные агонисты. Все соединения, представленные на фиг. 1 указанного отбора, включены в него в виде ссылки. На практике несколько перспективных лекарственных средств, обладающих действием агониста $\alpha 7$ -nAChR, прошли доклиническое или даже клиническое исследование (см. Broad и др., Drugs of the Future, 32(2), 2007, сс. 161-170; Romanelli и др., Expert Opin Ther Patents, 17(11), 2007, сс. 1365-1377). Примерами таких соединений - также принадлежащих к разнообразным хемотипам - являются MEM3454, MEM63908, SSR180711, GTS21, EVP6124, ABT107, ABT126, TC-5619, AZD-6319 и SAR-130479. Кроме того, агонисты $\alpha 7$ -nAChR и их применение в качестве фармацевтических средств известны, например, из WO 2001/85727, WO 2004/022556, WO 2005/118535, WO 2005/123732, WO 2006/005608, WO 2007/045478, WO 2007/068476 и WO 2007/068475.

Согласно настоящему изобретению агонист $\alpha 7$ -nAChR является соединением В-5: (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октан в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли.

Указанное соединение и его получение известно из WO 2001/85727, WO 2004/022556, WO 2005/118535, WO 2005/123732, WO 2006/005608, WO 2007/045478, WO 2007/068476 и WO 2007/068475, или они могут быть получены подобно описанному в указанных ссылках.

Один объект изобретения касается применения (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октана в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли для получения лекарственного средства для лечения, предупреждения или отсрочки прогрессирования дискинезии, ассоциированной с лечением болезни Паркинсона агонистом допамина.

В одном из вариантов изобретение касается применения (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октана в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли для получения лекарственного средства для лечения, предупреждения или отсрочки прогрессирования дискинезии, ассоциированной с лечением болезни Паркинсона, где агонист допамина представляет собой леводопу.

Другой объект настоящего изобретения касается комбинированного препарата для лечения болезни Паркинсона, содержащего (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октан в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли и леводопу для одновременного, раздельного или последовательного применения.

Кислотно-аддитивными солями агонистов $\alpha 7$ -nAChR предпочтительно являются фармацевтически приемлемые соли. Такие соли известны в данной области (например, S.M. Berge и др., J. Pharm. Sci., 66, 1977, сс. 1-19; кн.: "Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties, Selection, and Use", 2002, под ред. Stahl R.H., Wermuth C.G., изд-во Wiley-VCH and VHCA, Цюрих). Понятие "фармацевтически приемлемая соль" относится к соли свободного основания агониста $\alpha 7$ -nAChR, т.е. (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октана, не являющейся токсичной, биологически непереносимой или нежелательной по другой биологической причине. Предпочтительными фармацевтически приемлемыми со-

лями являются те соли, которые фармацевтически эффективны и применимы для контакта с тканями пациента без чрезмерной токсичности, раздражения или аллергической реакции.

Дискинезия, ассоциированная с лечением агонистом допамина.

Понятие "лечение агонистом допамина" обычно применяют при лечении болезни Паркинсона. В контексте настоящего изобретения понятие "лечение агонистом допамина", если не указано иначе, означает какое-либо лечение, повышающее стимуляцию рецептора допамина, включая, но ими не ограничиваясь, терапии, непосредственно стимулирующие рецепторы допамина (например, введение бромкриптина), и терапии, которые повышают уровни допамина (например, введение леводопы или лекарственных средств, которые ингибируют метаболизм допамина).

К лечению агонистами допамина относится, но им не ограничивается, лечение, которое включает введение одного или нескольких агентов, к которым относятся

леводопа (или L-допа, являющаяся предшественником допамина),

леводопа в комбинации с ингибитором декарбоксилазы леводопы, например карбидопой или бензеразидом,

леводопа в комбинации с ингибитором катехол-О-метилтрансферазы, например толкапоном или энтакапоном,

ингибитор моноаминоксидазы В, например селегилин или разагилин,

агонист рецептора допамина, например бромкриптин, перголид, прамипексол, ропинирол, каберголин, апоморфин или лизурид.

В контексте настоящего изобретения понятие "агонист допамина", если не указано иначе, означает какой-либо агент, который повышает стимуляцию рецептора допамина. Предпочтительным агонистом допамина является леводопа.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения лечение включает введение леводопы. Из-за частоты возникновения ассоциированной дискинезии суточное дозирование леводопы для эффективного лечения агонистом допамина болезни Паркинсона должно быть определено индивидуально для каждого пациента и обычно находится в диапазоне от 250 до 1500 мг. Указанная общая суточная доза распределяется на 2-6 введений в сутки, например 3-6 введений по 50-100 мг на введение. Обычно суточная доза леводопы, требуемая для эффективной терапии, повышается по мере прохождения курса терапии декарбоксилазы леводопы, например карбидопой или бензеразидом.

Понятие "дискинезия, ассоциированная с лечением агонистом допамина", в контексте настоящего изобретения, если не указано иначе, означает какую-либо дискинезию, которая сопровождается или возникает после курса лечения агонистом допамина, или которая вызывается, или связана, или усиливается при лечении агонистом допамина, причем дискинезия и лечение агонистом допамина описаны выше. Такая дискинезия часто, хотя и не исключительно, присутствует в качестве побочного эффекта указанной терапии болезни Паркинсона агонистом допамина.

Отличительными признаками подобных дискинезий являются ухудшение подвижности, например появление медленных и нескоординированных непроизвольных движений, дрожание, ооченение и нарушение походки.

Например, у пациентов, которых лечили леводопой, часто в меньшей степени проявляются симптомы болезни Паркинсона, но в большей степени осложнена способность стоять или даже сидеть. После пролонгированного применения леводопы у большинства пациентов развивается такая дискинезия. Дискинезия может возникнуть в любое время на протяжении цикла лечения леводопой.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агонист $\alpha 7$ -nAChR (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октан в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли предусмотрены для лечения дискинезии, причем лечение включает введение леводопы, и указанная дискинезия происходит во время пиковых концентраций леводопы в плазме пациента.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агонист $\alpha 7$ -nAChR (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октана в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли предусмотрен для лечения дискинезии, причем лечение включает введение леводопы, и указанная дискинезия происходит, когда концентрации леводопы в плазме пациента возрастают или падают (двухфазная дискинезия).

Неожиданно было установлено, что (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октан в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли способен пролонгировать действие агонистов допамина, например леводопы. Поэтому при сравнении с терапиями с использованием таких агонистов допамина временные интервалы для введения указанных агонистов допамина могут быть пролонгированы, что приводит к снижению суточной дозы, требуемой для достижения равноценного лечения болезни Паркинсона.

Другой объект настоящего изобретения относится к способу лечения или отсрочки прогрессирования болезни Паркинсона у субъекта, нуждающегося в таком лечении, который включает введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества (i) агониста допамина и (ii) агониста $\alpha 7$ -nAChR, причем суточную дозу агониста допамина снижают по сравнению с суточной дозой указанного

агониста допамина, требуемой для достижения равноценного лечения болезни Паркинсона у субъекта без одновременного введения агониста $\alpha 7$ -nAChR или положительного аллостерического модулятора $\alpha 7$ -nAChR.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения указанный агонист допамина представляет леводопу.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения указанная уменьшенная суточная доза представляет дозу, сниженную по меньшей мере на 10%.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения указанная уменьшенная суточная доза представляет дозу, сниженную по меньшей мере на 20%.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения указанная сниженная суточная доза достигается введением агониста допамина с более длительными временными интервалами.

Лечение может включать снижение проявления признаков, ассоциированных с дискинезией, включая, например, однако ими не ограничиваясь, понижение по оценочной шкале непроизвольных движений, снижение числа непроизвольных движений, улучшение способности к выполнению повседневных задач, улучшение способности ходить, удлинение периодов времени между приступами дискинезии.

Одна из задач при лечении дискинезий, ассоциированных с лечением агонистом допамина болезни Паркинсона, заключается в том, что указанное лечение должно оказывать минимальное побочное воздействие на лечение самой болезни Паркинсона, которое осуществляют с помощью агониста допамина. Например, нейролептики, которые можно применять для лечения дискинезий, проявляют побочное действие, выражаемое в воздействии на эффективность лечения агонистом допамина и проявляемое, например, в параметрах, ассоциированных с пониманием, депрессией и характером сна у пациентов с болезнью Паркинсона. Большое значение может иметь антидискинетический агент, обладающий положительным воздействием на лечение самой болезни Паркинсона, например, улучшающий показатели, ассоциированные с когнитивной способностью.

В случае профилактического лечения агонист $\alpha 7$ -nAChR (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-азабицикло[2.2.2]октана в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли может применяться для отсрочки или предупреждения начала дискинезии.

Понятие "субъект" в контексте настоящего изобретения предпочтительно относится к людям, особенно к пациенту, у которого диагностирована болезнь Паркинсона.

Понятие "терапевтически эффективное количество" в контексте настоящего изобретения обычно относится к количеству лекарственного средства, которое при введении субъекту достаточно для получения терапевтического полезного эффекта, например, достаточно для лечения, предупреждения или отсрочки прогрессирования дискинезии, ассоциированной с лечением агонистом допамина (например, к количеству, обеспечивающему облегчение симптомов, например, приводя к снижению показателя по шкале оценки непроизвольных движений).

Для указанных выше показаний (состояний и расстройств) соответствующие дозировки могут варьировать в зависимости, например, от применяемого соединения, хозяина, способа введения, а также от природы и тяжести подвергаемого лечению состояния. Однако показано, что в целом удовлетворительные результаты на животных получают в суточной дозе примерно от 0,01 до примерно 100 мг/кг массы тела, предпочтительно примерно от 0,1 до примерно 10 мг/кг массы тела, например 1 мг/кг. У более крупных млекопитающих, например у людей, указанная суточная доза находится в диапазоне примерно от 0,1 до примерно 1000 мг, предпочтительно примерно от 1 до примерно 400 мг, наиболее предпочтительно примерно от 3 до примерно 100 мг агониста $\alpha 7$ -nAChR или положительного аллостерического модулятора $\alpha 7$ -nAChR, введенного удобным способом, например, в виде отдельных доз до 4 раз в сутки.

Комбинации.

Настоящее изобретение также предусматривает комбинацию для лечения болезни Паркинсона, включающую агонист $\alpha 7$ -nAChR, которым является (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-азабицикло[2.2.2]октан в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли, и леводопу.

Агонист $\alpha 7$ -nAChR, которым является (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-азабицикло[2.2.2]октан в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли, и леводопу могут вводиться вместе, одно за другим или отдельно в одной комбинированной дозированной форме или в двух отдельных дозированных формах. Дозированная форма также может быть фиксированной комбинацией.

В контексте настоящего изобретения понятие "комбинации" может применяться для обозначения одного или нескольких веществ, которые могут вводиться вместе, одно за другим или отдельно в одной комбинированной дозированной форме или в двух отдельных дозированных формах.

Введение дозированных форм может быть одно за другим, одновременно, частично одновременно, отдельно или последовательно. Дозированные формы комбинации необязательно должны быть одной и той же дозированной формой и могут представлять одну или несколько из следующих форм: для приме-

нения внутрь, перорального (капсулы, таблетки, растворы), ректального (суппозитории); для парентерального введения путем внутривенной инъекции, подкожной инъекции, внутримышечной инъекции, внутрибрюшинной инъекции, интрамаммарной инъекции; респираторного введения путем ингаляции, интраназального, интратекального; местного применения путем аппликаций на слизистые, кожные аппликации.

Кроме того, профили высвобождения лекарственных средств могут быть разными, например один или несколько компонентов комбинации могут быть формой пролонгированного освобождения.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения применяют специфическую комбинацию. Указанная комбинация включает:

(А) агонист $\alpha 7$ -nAChR, которым является (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октан в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли, и

(Б) леводопу.

Применимость агонистов $\alpha 7$ -nAChR в лечении указанных выше расстройств может быть подтверждена с помощью различных стандартных тестов, включая указанные ниже.

1. Тесты in vitro.

1.1. Избирательность выбранных агонистов $\alpha 7$ -nAChR в отношении $\alpha 4\beta 2$ -nAChR.

Основываясь на приведенных ниже данных по действию/избирательности приходят к заключению, что указанные соединения являются избирательными агонистами в отношении $\alpha 7$ -nAChR.

Соединение	Действие $\alpha 7$ -nAChR		Действие $\alpha 4\beta 2$ -nAChR		Кратная избирательность
	Эффективность EC ₅₀ (нМ)	Эффективность при сравнении с эпibatидином (100%)	IC ₅₀ (нМ)	EC ₅₀ (нМ)	
A-1	100	83	23442	>100 000	234
C-1	24	84	9333	>100 000	388
B-13	13	89	4217	>100 000	324

Анализ.

Для оценки действия $\alpha 7$ -nAChR проводят функциональный анализ, используя клетки GN3, которые рекомбинантно экспрессируют $\alpha 7$ -nAChR человека. Высевают по 50000 клеток в лунки за 72 ч до проведения эксперимента в 96-луночные черные планшеты (фирма Costar) и инкубируют при 37°C во влажной атмосфере (5% CO₂/95% воздух). В день проведения эксперимента среду удаляют из планшетов резким движением и замещают 100 мкл культуральной среды, содержащей 2 мМ Fluo-4 (фирма Molecular Probes), в присутствии 2,5 мМ пробенецида (фирма Sigma). Клетки инкубируют при 37°C во влажной атмосфере (5% CO₂/95% воздух) в течение 1 ч. Планшеты резко встряхивают для удаления избытка Fluo-4, дважды промывают Нерес-буферным солевым раствором (в мМ: NaCl 130, KCl 5,4, CaCl₂ 2, MgSO₄ 0,8, NaH₂PO₄ 0,9, глюкоза 25, Нерес 20, pH 7,4; HBS) и заполняют заново 100 мкл HBS, при необходимости с антагонистом. Инкубирование в присутствии антагониста длится 3-5 мин. Планшеты помещают на платформу для клеточных планшетов в устройство FLIPR (ридер флуоресценции, фирма Molecular Devices, Sunnyvale, Калифорния, США). После записи базового уровня (лазер: возбуждение при 488 нм при 1 Вт, камеру CCD открывают на 0,4 с) в планшеты для клеток добавляют агонисты (50 мкл), используя дозатор с 96 наконечниками FLIPR, при этом записывая показатели флуоресценции. Данные по кинетике кальция нормализуют по максимальному соответствующему ответу, индуцированному эпibatидином, который является в полной мере агонистом в отношении $\alpha 7$ -nAChR. Четыре параметра уравнения Хилла устанавливают по концентрации-ответу. Величины E_{max} (максимальный ответ в процентах относительно ответа на эпibatидин) и EC₅₀ (concentration producing half the maximal effect in мкМ) определяют из этой установки.

Анализ описан D. Feuerbach и др. в Neuropharmacology 48, 2005, сс. 215-227.

Для оценки действия соединения по настоящему изобретению на нейрональный рецептор nAChR $\alpha 4\beta 2$ человека проводят сходное функциональное исследование, используя линию эпителиальных клеток человека, стабильно экспрессирующую подтип $\alpha 4\beta 2$ человека (Michelmor и др., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 366, 2002, с. 235).

2. Доклинические исследования in vivo.

2.1. Пероральная биодоступность и проникновение в мозг мышей.

На основании фармакокинетических данных, представленных ниже, делают заключение, что концентрация в мозге указанного соединения у мышей находится за пределами (или, по меньшей мере, равноценна) величины EC₅₀ этого соединения в отношении $\alpha 7$ -nAChR в течение по меньшей мере 4 ч после острой пероральной дозы 30 мкмоль/кг.

Соединение А-1.

Введение	Время (ч)	Плазма (пМ/мл ± стандартное отклонение)	Мозг (пМ/г ± стандартное отклонение)	Соотношение мозг/плазма
30 мкМ/кг перорально	0,5	634,9 ± 261,3	706,3 ± 153,4	1,1
30 мкМ/кг перорально	1	684,7 ± 339,6	573,7 ± 109,3	0,8
30 мкМ/кг перорально	2	168,2 ± 91,3	191,9 ± 34,9	1,1
30 мкМ/кг перорально	4	85,0 ± 54,3	104,6 ± 39,6	1,2
30 мкМ/кг перорально	6	29,5 ± 13,8	40,5 ± 12,1	1,4
30 мкМ/кг перорально	24	3,8 ± 0,6	9,1 ± 2,7	2,4

Соединение В-13.

Введение	Время (ч)	Плазма (пМ/мл ± стандартное отклонение)	Мозг (пМ/г ± стандартное отклонение)	Соотношение мозг/плазма
30 мкМ/кг перорально	0,25	2196 ± 397	1884 ± 291	0,86
30 мкМ/кг перорально	0,5	2265 ± 419	2960 ± 706	1,31
30 мкМ/кг перорально	1	1554 ± 523	2940 ± 335	1,89
30 мкМ/кг перорально	2	1172 ± 252	1260 ± 172	1,07
30 мкМ/кг перорально	4	429 ± 167	379 ± 134	0,88
30 мкМ/кг перорально	8	80 ± 23	93 ± 30	1,17
30 мкМ/кг перорально	24	*	13 ± 4	

Соединение С-1.

Введение	Время (ч)	Плазма (пМ/мл ± стандартное отклонение)	Мозг (пМ/г ± стандартное отклонение)	Соотношение мозг/плазма
30 мкМ/кг перорально	0,25	1601 ± 758	620 ± 221	0,39
30 мкМ/кг перорально	0,5	3414 ± 956	1405 ± 539	0,41
30 мкМ/кг перорально	1	1241 ± 583	1458 ± 189	1,17
30 мкМ/кг перорально	2	875 ± 261	1478 ± 259	1,69
30 мкМ/кг перорально	4	762 ± 159	842 ± 187	1,11
30 мкМ/кг перорально	8	239 ± 27	362 ± 62	1,51
30 мкМ/кг перорально	24	*	*	

Анализ.

Соединения вводят перорально (30 мкмоль/кг). Самцов мышей (30-35 г, линия OF1/IC) умерщвляют в определенное время до или после введения. Кровь из тела собирают в пробирки с EDTA, мозг удаляют и немедленно замораживают на сухом льду.

К 100 мкл плазмы добавляют 10 мкл внутреннего стандарта (1,0 пмоль соединения с растворимостью и ионизацией, сходной с исследуемым соединением) и трижды экстрагируют 500 мкл дихлорметана. Скомбинированные экстракты затем высушивают под потоком азота и заново растворяют в 100 мкл ацетонитрила/воды (70% ацетонитрил). Образцы мозга взвешивают и гомогенизируют в воде (1:5 мас./об.). Две аликвоты по 100 мкл каждого гомогената + 10 мкл внутреннего стандарта (тот же стандарт, что и для образцов плазмы) трижды экстрагируют 500 мкл дихлорметана и дополнительно обрабатывают как образцы плазмы. Образцы разделяют в системе высокоэффективной жидкостной хроматографии

Beckmann с сэмплером (Gilson 233XL). Линейный 10-минутный градиент (10-70%) ацетонитрила, содержащего 0,5 об.% муравьиной кислоты применяют для элюции соединений с колонки с обратной фазой Nucleosil CC-125/2 C18 (фирма Machery&Nagel).

Предел обнаружения выражен в качестве наименьшей концентрации экстрагированного стандартного образца с отношением сигнала к шуму ~3.

2.2. Функциональный вывод считываемых данных у мышей (тест социального распознавания).

На основании функциональных полученных *in vivo* данных, представленных ниже, делают заключение, что пероральное дозирование указанного соединения в соответствующих концентрациях приводит к специфическому эффекту, ассоциированному с $\alpha 7$ -nAChR (т.е. к когнитивному улучшению у мышей при выполнении теста социального распознавания).

Соединение	Снижение времени распознавания (в % $\pm$ средняя стандартная ошибка) за 24 ч	Доза в мг/кг
A-1	52 $\pm$ 4	3
C-1	51 $\pm$ 3	0,3
B-13	37 $\pm$ 7	0,3

Анализ.

Социальные взаимоотношения между двумя экспериментальными животными зависят от степени их дружеского общения: чем лучше они знают друг друга, тем меньше времени они тратят на взаимный осмотр при каждой встрече. Эти данные согласуются с опубликованными данными по крысам (Mondadori и др., 1993), а именно (i) взрослые мыши демонстрируют более краткий осмотр молодого партнера, если эти двое животных вновь встретились через небольшой временной интервал (например, 1 ч), (ii) такое сокращение приписывается процессам памяти: этого не наблюдают, если знакомого молодого партнера замещают другой (незнакомой) молодой мышью при второй встрече, и (iii) распознавание взрослой мышью ранее распознанного молодого партнера постепенно ослабевает по прошествии времени, т.е. через 24 ч, взаимный осмотр занимает то же время, что и при первой встрече. Агенты, повышающие память (т.е. оксирацетам), облегчают обучаемость до той степени, которой ранее отличался (знакомый) партнер, сохранявший память через 24 ч, хотя у контрольных животных, обработанных растворителем, память обычно ослабевает менее чем через 1 ч (Thor и Holloway, 1982) или через 2-3 ч.

Исходный тест.

Пары, состоящие из взрослой и молодой мыши, случайным образом делят на экспериментальную и контрольную группы. В каждой паре только взрослую мышь перорально обрабатывают за 1 ч до исследования или растворителем, или исследуемым соединением. Длительность активных контактов взрослой мыши с молодой мышью фиксируют вручную на протяжении 3 мин, включая следующие поведенческие, связанные с подходом, положения: фырканье, обнюхивание, груминг, вылизывание, поскребывание и игровое поведение, анально-половое исследование и ориентацию в отношении молодой мыши; ориентацию определяют в том случае, если кончик носа взрослой мыши находится на расстоянии примерно менее 1 см от тела молодой мыши.

Повторный тест.

Через 24 ч после проведения исходного теста взрослым мышам в каждой группе предъявляют ранее известных (знакомых) партнеров, причем половину взрослых животных помещают рядом с ранее известным (знакомым) партнером, а другую половину - с другой (незнакомой) молодой мышью. Заново записывают длительность активных подходов-поведений на протяжении периода длительностью 3 мин. Перед повторным тестом не проводят перорального впрыскивания.

В таблице приводят данные по снижению времени осмотра знакомого партнера через 24 ч по сравнению со знакомым партнером в нулевое время (нулевая величина означает отсутствие снижения).

2.3. Оценка антидискинетического действия у приматов с паркинсонизмом.

Основываясь на данных *in vivo*, полученных на приматах с паркинсонизмом, приходят к заключению, что соединение A-1 не отсрочивает начало действия леводопы, не снижает действие леводопы против паркинсонизма, существенно снижает индуцированную леводопой дискинезию и существенно повышает длительность действия леводопы против паркинсонизма.

2.3.1. Метод.

Самок макаки крабоеда (*Macaca fascicularis*) с удаленным яичником применяют для оценки. У животных могут компенсировать паркинсонизм непрерывной инфузией 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина до тех пор, пока у них не разовьется стабильный синдром паркинсонизма. После выздоровления животных ежедневно лечат леводопой до тех пор, пока не разовьется четкая и повторяющаяся дискинезия.

2.3.2. Оценка.

Обезьян наблюдают через окно одностороннего наблюдения в их вольерах. Их осматривают и оценивают повторно относительно исходного уровня и после стандартной подкожной дозы леводопы. Двигательную активность оценивают и отслеживают с помощью электронной системы мониторинга. Ответные реакции против паркинсонизма оценивают путем измерения двигательной активности и по шкале инвалидности для больных паркинсонизмом (см. Hady Tahar A. и др., Clin. Neuropharmacol. 23, 2000, сс.

195-202; Samadi P. и др., *Neuropharmacology* 45, 2003, сс. 954-963). Дискинезии подвергают тщательному мониторингу и дают оценку по шкале определения дискинезии (also described in Hadj Tahar A. и др.; и Samadi P. и др.) каждые 15 мин до конца действия. Дозы леводопы выбирают для индукции двигательной активации и возобновляемой дискинезии, но не интенсивного возбуждения.

2.3.3. Протокол.

Обезьян наблюдают на протяжении по меньшей мере двух часов после перорального введения растворителя. На следующие сутки выбранную дозу леводопы тестируют. Животных выбирают (с измерениями паркинсонизма и получением дискинетических оценок) для полноценного по длительности воздействия леводопы, а также проводят мониторинг двигательной активности. Предусматривают сравнение величин контролей, в которых применяют растворитель, и данных по антипаркинсонизму и дискинезии при применении леводопы с комбинациями агониста/положительного аллостерического модулятора $\alpha 7$ -nAChR и леводопы. Обезьян затем исследуют с помощью комбинаций агониста/положительного аллостерического модулятора $\alpha 7$ -nAChR в сочетании с фиксированной дозой леводопы. Суспензию для перорального введения агониста/положительного аллостерического модулятора $\alpha 7$ -nAChR вводят до леводопы. После каждой дозы животных осматривают (дают оценку паркинсонизма и дискинезии) для определения длительности эффекта и мониторинга двигательной активности или какого-либо изменения в поведении (например, движения по кругу, возбуждения, летаргии и сонливости).

С помощью этого протокола исследуют соединение A-1 в дозе 20 мг/кг. Результаты, полученные на пяти обезьянах (дозы леводопы/бензераида: 22,5/50 мг, 65/50 мг, 30/50 мг, 35/50 мг и 25/50 мг), показаны на фиг. 1-4. В указанных экспериментах соединение A-1 снижает среднюю оценку дискинезии (за весь период) с 2,8 до 2,1, кроме того, соединение A-1 продлевает действие леводопы с 230 мин до 265 мин. Ни время после введения леводопы, ни степень антипаркинсонического действия леводопы, измеренная по шкале оценки паркинсонизма, существенно не изменились в результате введения соединения A-1.

2. Клиническое тестирование: исследования улучшений.

Клиническое тестирование агониста/положительного аллостерического модулятора $\alpha 7$ -nAChR может быть выполнено, например, по одной из нижеследующих схем исследования. Опытный врач может увидеть ряд специфических моментов в поведении пациента и в его навыках. Он может рассматривать такие исследования в качестве рекомендаций, и некоторые моменты исследования могут быть модифицированы и переопределены, в зависимости, например, от обстоятельств и условий.

2.1. Исследование А: здоровая группа пациентов.

Исследуют пациентов в группе с нормальными контролями, которых дозируют раз в сутки в течение недели. Исследование проводят таким образом, чтобы выявить улучшение, т.е. имеется параметр, позволяющий измерить повышение ослабленной функции. Пациентов исследуют в начале и в конце периода дозирования, и результаты сравнивают и анализируют.

2.2. Исследование Б: группа пациентов с недостаточностью.

Исследуют группу пациентов, имеющих недостаточность, ассоциированную с болезнью Паркинсона, и ассоциированные расстройства, например дискинезию при болезни Паркинсона, например, дискинезию, индуцированную при болезни Паркинсона лечением леводопой, дозируют раз в сутки в течение недели или более. Исследование проводят таким образом, чтобы выявить улучшение, т.е. имеется параметр, позволяющий измерить повышение ослабленной функции. Пациентов исследуют в начале и в конце периода дозирования, и результаты сравнивают и анализируют.

2.3. Основания для планирования исследования.

При планировании исследования специалист может оценить потребность в защите от эффектов "пола и потолка". Иными словами, планируемое исследование должно допустить в известной степени повышение или понижение сознания.

Условия, которые искусственно ослабляют функцию, например сознание, являются одним направлением для анализа улучшения этой функции. Такими условиями являются, например, потеря сна и фармакологические пробы.

Необходим контроль плацебо для всех исследований.

При рассмотрении данных должна быть получена оценка вероятности воздействий на обучение и практику исходя из повторяемых оценок. Вероятность таких оценок, нарушающих данные по получению ложно положительных результатов, должна быть учтена при конструировании исследования, например исследования не должны быть идентичными (например, предлагать один и тот же перечень слов для запоминания), но разработанными таким образом, чтобы исследовать один и тот же механизм. К другим средствам может относиться отдельное тестирование только в конце исследования.

Описание фигур

Фиг. 1 - время, прошедшее после введения L-допы приматам, страдающим паркинсонизмом, по оценке поведенческого ответа;

фиг. 2 - средняя оценка паркинсонизма (общий период) после введения L-допы приматам, страдающим паркинсонизмом;

фиг. 3 - средняя оценка дискинезии (общий период) после введения L-допы приматам, страдающим паркинсонизмом;

фиг. 4. - длительность ответа L-допы после введения L-допы приматам, страдающим паркинсонизмом.

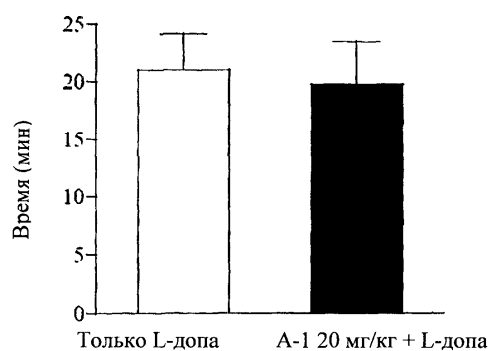
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октана в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли для получения лекарственного средства для лечения, предупреждения или отсрочки прогрессирования дискинезии, ассоциированной с лечением болезни Паркинсона агонистом допамина.

2. Применение по п.1, где агонист допамина представляет собой леводопу.

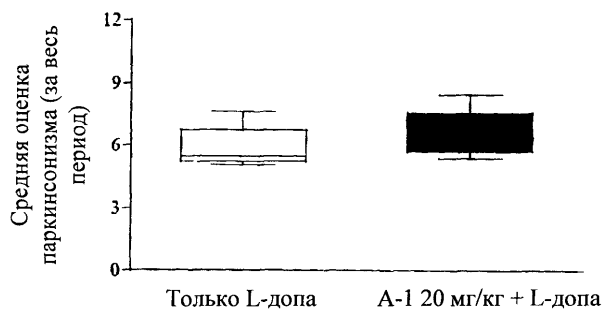
3. Комбинированный препарат для лечения болезни Паркинсона, содержащий (R)-3-(6-р-толил-пиридин-3-илокси)-1-аза-бицикло[2.2.2]октан в форме свободного основания или в форме кислотно-аддитивной соли и леводопу для одновременного, раздельного или последовательного применения.

Время после введения L-допы, по прошествии которого проявляется поведенческий ответ



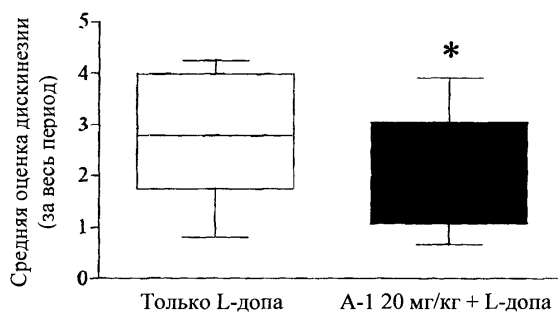
Фиг. 1

Средняя оценка паркинсонизма (за весь период)



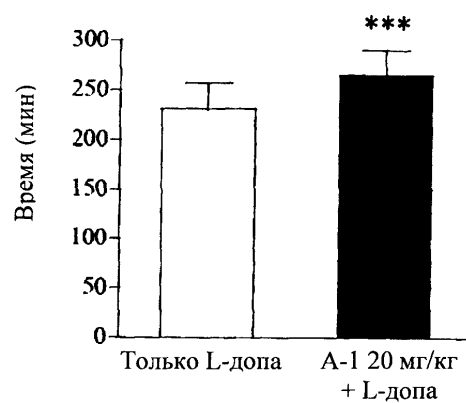
Фиг. 2

Средняя оценка дискинезии (за весь период)



Фиг. 3

Длительность ответа на L-допу



Фиг. 4

