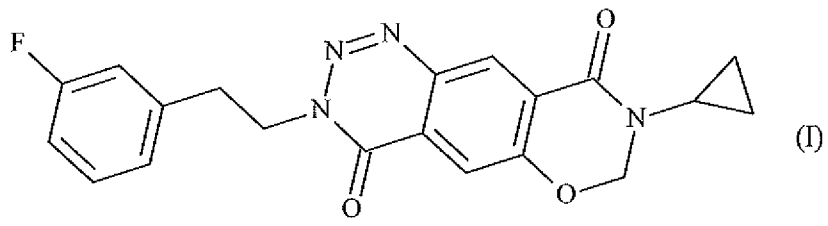
NOUVELLE ASSOCIATION ENTRE LE 8-CYCLOPROPYL-3-[2-(3-FLUOROPHENYL) ETHYL]-7,8-DIHYDRO-3H-[1,3]OXAZINO[6,5-G][1,2,3]BENZOTRIAZINE-4,9-DIONE ET UN INHIBITEUR DE L'ACETYLCHOLINESTERASE, ET COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES CONTENANT CELLE-CI

La présente invention concerne une nouvelle association entre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione de formule (I) :



(I)

ou un de ses sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase pour l'obtention de compositions pharmaceutiques utiles dans le traitement des troubles cognitifs associés au vieillissement cérébral et aux maladies neurodégénératives.

Le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione est un modulateur allostérique positif des récepteurs glutamatergiques AMPA décrit dans la demande de brevet WO 2008/085506. Plus précisément, le composé de formule (I) possède des propriétés procognitives, améliore la plasticité synaptique et démontre des propriétés neuroprotectrices, lui conférant une activité intéressante dans le traitement des désordres du système nerveux central et, plus particulièrement, dans le traitement des déficits cognitifs associés au vieillissement cérébral et aux maladies neurodégénératives.

La présente invention concerne l'association entre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione de formule (I) ou ses sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, ainsi que ses propriétés intéressantes pour le traitement des troubles cognitifs associés au vieillissement cérébral et aux maladies neurodégénératives.

Les maladies neurodégénératives liées au vieillissement cérébral telles que la maladie

d'Alzheimer sont caractérisées par des troubles de la mémoire et des dysfonctionnements cognitifs. Les troubles cognitifs sont généralement associés à une diminution de la capacité des neurones à synthétiser et à libérer certains neurotransmetteurs tels que, par exemple, le glutamate et l'acétylcholine (Robbins et al., *Trends in Pharmacol. Sci.* 2006(3), 27, 141-148). De plus, on observe une perte progressive de la plasticité synaptique et des processus neuronaux, cette perte neuronale étant accélérée dans certaines régions spécifiques du cerveau. Des études pathophysiologiques ont indiqué clairement qu'un déficit de la neurotransmission glutamatergique est associé étroitement avec le développement de la maladie d'Alzheimer (Advokat et al., *Neuroscience & Biobehav. Rev.* 1992, 16, 13-24 ; Francis et al., *Progress in Neurobiology* 1992, 39(5), 517-545).

Dans le système glutamatergique, le récepteur à l'AMPA ("α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid") apparaît être le plus impliqué dans les phénomènes d'excitabilité neuronale physiologique et, notamment, dans ceux impliqués dans les processus de mémorisation. Pour exemple, l'apprentissage a été montré comme étant associé à l'augmentation de la liaison de l'AMPA à son récepteur dans l'hippocampe, l'une des zones cérébrales essentielles aux processus cognitifs.

En parallèle, on observe une dégénérescence progressive des neurones cholinergiques au cours de la maladie d'Alzheimer. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase tels que le donépézil sont couramment utilisés dans le traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer afin de limiter la diminution des taux d'acétylcholine dans le cerveau en bloquant l'action de l'acétylcholinestérase. Il a été montré que les inhibiteurs d'acétylcholinestérase, tout comme les modulateurs allostériques positifs des récepteurs AMPA, permettaient d'améliorer les propriétés cognitives dans différents modèles animaux de mémoire épisodique et de mémoire de travail (Black, *Psychopharmacol.* 2005, 179, 154-163 ; O'Neill et al., *IDrugs* 2007, 10(3), 185-192 ; Yuede et al., *Behav. Pharmacol.*, 2007, 18(5-6), 347-363). L'amélioration des fonctions cognitives peut donc reposer sur deux types de stratégie, ciblant soit les récepteurs AMPA ou le glutamate, soit l'acétylcholine.

De façon surprenante, la présente invention a montré que les effets des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont potentialisés par ceux du 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl) éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione ou de ses sels

d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable. Ainsi, la coadministration de ces composés pourrait permettre d'améliorer les performances cognitives des patients par rapport à la simple administration d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase sans toutefois observer ou augmenter les effets délétères associés au traitement (en particulier, les troubles gastro-intestinaux tels que la nausée ou la diarrhée, les céphalées ou la fatigue). Autrement dit, des traitements utilisant des doses thérapeutiques d'inhibiteur de l'acétylcholinestérase inférieures à celles classiquement utilisées en mono-administration deviennent donc envisageables, avec des performances cognitives équivalentes voire supérieures et des effets délétères moindres.

Plus surprenant, l'association entre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione, ou un de ses sels d'addition, administré à une dose subactive et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase lui aussi administré à une dose subactive provoque un effet synergique avec de bonnes performances sur la cognition.

Ces effets, non prévisibles, permettent d'envisager l'utilisation des associations entre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3] benzotriazine-4,9-dione, ou un de ses sels d'addition, et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase dans le traitement des troubles cognitifs associés au vieillissement cérébral et aux maladies neurodégénératives. Les troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer sont particulièrement visés. Plus particulièrement, les troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer chez les patients ayant des symptômes dépressifs sont visés.

Préférentiellement, le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3] oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione est utilisé sous la forme de base dans le cadre de l'invention.

Parmi les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase selon l'invention, on choisira parmi physostigmine, rivastigmine, galantamine, donépézil, tacrine ou huperzine A. Selon un mode de réalisation préféré, l'inhibiteur de l'acétylcholinestérase est choisi parmi le donépézil, la rivastigmine ou la galantamine. Le donépézil est préférentiellement utilisé

sous la forme d'un chlorhydrate, la rivastigmine sous la forme d'un hydrogénotartrate et la galantamine sous la forme d'un bromhydrate. Avantageusement, l'inhibiteur de l'acétylcholinestérase est le donépézil.

Plus particulièrement, l'association du 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase choisi parmi donépézil, rivastigmine ou galantamine, est utilisée dans le traitement des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer et, plus particulièrement, les troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer chez les patients ayant des symptômes dépressifs.

L'invention concerne aussi l'utilisation de l'association entre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione ou ses sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, pour l'obtention de compositions pharmaceutiques destinées au traitement des troubles cognitifs associés au vieillissement cérébral et aux maladies neurodégénératives.

Plus particulièrement, l'invention concerne l'utilisation de l'association entre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione ou ses sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase choisi parmi donépézil, rivastigmine ou galantamine, pour l'obtention de compositions pharmaceutiques destinées au traitement des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer et, plus particulièrement, les troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer chez les patients ayant des symptômes dépressifs.

L'invention concerne également les compositions pharmaceutiques contenant l'association entre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-g][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione ou ses sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase en combinaison avec un ou plusieurs excipients pharmaceutiquement acceptables.

Avantageusement, l'invention concerne les compositions pharmaceutiques contenant l'association entre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3] oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione ou ses sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase choisi parmi donépézil, rivastigmine ou galantamine, en combinaison avec un ou plusieurs excipients pharmaceutiquement acceptables.

Dans les compositions pharmaceutiques selon l'invention, la fraction massique en principes actifs (masse des principes actifs sur la masse totale de la composition) est comprise entre 5 et 50 %.

Parmi les compositions pharmaceutiques selon l'invention, on retiendra plus particulièrement celles qui conviennent pour l'administration par voie orale, parentérale et notamment intraveineuse, per ou transcutanée, nasale, rectale, perlinguale, oculaire, respiratoire et plus spécifiquement les comprimés simples ou dragéifiés, les comprimés sublinguaux, les gélules, les glossettes, les capsules, les tablettes, les préparations injectables, les aérosols, les gouttes oculaires ou nasales, les suppositoires, les crèmes, pommades, gels dermiques, les patchs transdermiques, etc...

Outre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*] [1,2,3]benzotriazine-4,9-dione et le composé inhibiteur de l'acétylcholinestérase, les compositions pharmaceutiques selon l'invention contiennent un ou plusieurs excipients ou véhicules choisis parmi des diluants, des lubrifiants, des liants, des agents de désintégration, les stabilisants, les conservateurs, des absorbants, des colorants, des édulcorants, les aromatisants, etc...

A titre d'exemple et de manière non limitative, on peut citer :

- pour les diluants : le lactose, le dextrose, le sucrose, le mannitol, le sorbitol, la cellulose, la glycérine ;
- pour les lubrifiants : la silice, le talc, l'acide stéarique et ses sels de magnésium et de calcium, le polyéthylène glycol ;

- pour les liants : le silicate d'aluminium et de magnésium, l'amidon, la gélatine, la tragacanthe, la méthylcellulose, la carboxyméthylcellulose de sodium et la polyvinylpyrrolidone ;
- pour les désintégrants : l'agar, l'acide alginique et son sel de sodium, les mélanges effervescents.

Les composés de l'association peuvent être administrés de manière simultanée ou séquentielle. La voie d'administration préférée est la voie orale. Une autre voie d'administration avantageuse est le patch transdermique. Les compositions pharmaceutiques correspondantes peuvent permettre la libération instantanée ou différée des principes actifs. Par ailleurs, les composés de l'association peuvent être administrés sous la forme de deux compositions pharmaceutiques distinctes, contenant chacune l'un des principes actifs, ou bien sous la forme d'une seule composition pharmaceutique, dans laquelle les principes actifs sont mélangés.

Les compositions pharmaceutiques préférées sont les comprimés.

La posologie utile varie selon le sexe, l'âge et le poids du patient, la voie d'administration, la nature de l'affection et des traitements éventuellement associés et s'échelonne entre 1 et 200 mg de 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione en équivalent base par 24 heures, et plus préférentiellement 5 à 50 mg par jour. La dose de l'inhibiteur de l'acétylcholinestérase sera égale ou inférieure à celle utilisée lorsqu'il est administré seul. Dans le cas du donépézil, la posologie est comprise entre 0,5 et 30 mg par jour, les doses quotidiennes préférées étant de 5 et 10 mg. Dans le cas de la rivastigmine, la posologie est comprise entre 0,5 et 20 mg par jour, les doses quotidiennes préférées étant de 1,5 et 14 mg. Dans le cas de la galantamine, la posologie est comprise entre 1 et 30 mg par jour, les doses quotidiennes préférées étant de 8 et 24 mg.

ETUDE PHARMACOLOGIQUE

EXEMPLE A : Expérience dans un modèle de mémoire épisodique, le test de discrimination contextuelle en série

Les effets du 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino [6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione et du donépézil (ce dernier utilisé sous la forme d'un chlorhydrate), administrés seuls ou en combinaison, ont été étudiés en utilisant un test de discrimination contextuelle en série chez la souris C57BL/6 d'âge moyen 14-15 mois (n = 12 par groupe) (Célérier et al., *Learn Mem.* 2004, 11(2), 196-204 ; Tronche et al., *Behav. Brain Res.* 2010, 215(2), 255-260). Dans ce modèle, les souris d'âge moyen présentent par rapport aux souris jeunes un dysfonctionnement spécifique de la mémoire contextuelle, sans déficit de mémoire spatiale. Ce modèle est pertinent pour évaluer les effets des produits dans la maladie d'Alzheimer car les patients atteints de cette démence présentent également, et ce de manière très précoce, des troubles de mémoire épisodique contextuelle (Gold et al., *Expert Rev. Neurother.* 2008, 8(12), 1879-1891).

Les souris, placées dans une boîte à bords élevés, apprennent deux types de discriminations spatiales consécutives (D1 : plancher blanc puis D2 : plancher noir) sur un plancher à quatre trous, dans lequel seul un des trous est appâté, et ce de manière opposée entre D1 et D2. Chaque discrimination est réalisée sur un plancher spécifique (blanc ou noir), qui constitue le contexte interne spécifique à chaque discrimination. Vingt-quatre heures après l'étape d'apprentissage, les souris sont replacées sur le plancher contextuel blanc et les paramètres suivants sont mesurés :

- le pourcentage de réponses correctes (i.e. % d'inclinaisons de la tête dans le trou ayant été appâté pendant l'exercice d'acquisition sur le plancher blanc),
- le pourcentage de réponses interférentes (i.e. % d'inclinaisons de la tête dans le trou ayant été appâté pendant l'exercice d'acquisition sur le plancher noir, le dernier contexte présenté aux souris),
- et le pourcentage d'erreurs (i.e. % d'inclinaisons de la tête dans les deux trous n'ayant pas été appâtés pendant l'acquisition, ni sur le plancher blanc, ni sur le plancher noir) (voir Figure 1).

Les résultats montrent que ces souris d'âge moyen traitées avec le véhicule présentent un pourcentage de réponses correctes proche du niveau de la chance dans ce test sur plaques à 4 trous (≈ 25 %). Après un traitement chronique de 9 jours de chlorhydrate de donépézil (0,1 mg/kg de base *per os*), une légère augmentation non significative du pourcentage de réponses correctes est observée par rapport au véhicule (35,5 % versus 26,4 % voir Figure 2). En revanche, le taux de réponses correctes augmente significativement de plus de 40 % par rapport au véhicule après un traitement chronique de 9 jours de 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione aux doses de 0,1 et 0,3 mg/kg *per os* (43,7 % à 0,1 mg/kg et 48 % à 0,3 mg/kg de réponses correctes) (composé appelé S sur la Figure 2). Enfin, l'administration de l'association du 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino [6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione (0,1 mg/kg de base *per os*) avec le donépézil (0,1 mg/kg de base *per os*) conduit à une augmentation significative du taux de réponses correctes puisque ces réponses sont supérieures à 100 % par rapport au véhicule seul (61,1 % de réponses correctes avec cette association versus 26,4 % véhicule seul). Ces résultats montrent une potentialisation nette des effets du donépézil en présence du 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3] benzotriazine-4,9-dione.

De plus, on a observé une très bonne corrélation entre l'augmentation du taux de réponses correctes et la diminution du taux de réponses interférentes, confirmant ainsi l'effet spécifique de chaque composé et de leur association sur la mémoire contextuelle. Ainsi, l'administration de l'association du 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione (0,1 mg/kg de base *per os*) avec le donépézil (0,1 mg/kg de base *per os*) augmente significativement la force de la mémoire contextuelle (réponses correctes – réponses interférentes) par rapport à celle observée avec les composés seuls. Cette augmentation observée pour l'association ne peut s'expliquer par une simple additivité des effets des composés administrés seuls et montre une synergie d'activité des deux composés lorsqu'ils sont coadministrés (voir Figure 3).

Les résultats mettent clairement en évidence que l'administration de 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione

et de donépézil en association permet d'obtenir un effet synergique important tout à fait inattendu. Par ailleurs, les analyses pharmacocinétiques ont montré qu'il n'y avait aucune interaction de type pharmacocinétique entre les deux traitements qui pourrait justifier ou interférer avec l'effet synergique décrit ci-dessus.

EXEMPLE B: Test d'observation primaire d'Irwin

Les effets en terme de sécurité du 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione et du donépézil (ce dernier sous la forme d'un chlorhydrate), administrés seuls ou en association, ont été étudiés en utilisant le test d'observation primaire d'Irwin chez la souris C57BL/6 (n = 4 individus par groupe).

Les changements comportementaux, les symptômes physiologiques et neurotoxiques, la température rectale, ainsi que le diamètre de la pupille ont été enregistrés suivant une grille d'observation standardisée, dérivée de celle d'Irwin.

Il a été observé que le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione (de 3 à 100 mg/kg de base *per os*) et le donépézil (à 0,3 et 1 mg/kg de base *per os*) donnés seuls ou en coadministration en aiguë n'induisent aucun changement chez la souris suivant la grille d'observation standardisée. A plus forte dose (3 et 10 mg/kg de base *per os*), le donépézil administré seul induit des tremblements, une sédation légère à modérée, une diminution du tonus musculaire et une diminution de la réactivité au toucher. Aucune potentialisation des effets observés sous donépézil à 3 et à 10 mg/kg n'a été observée lorsqu'il est coadministré avec le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione (de 3 à 100 mg/kg de base *per os*). De plus, dans cette étude les analyses pharmacocinétiques ont montré qu'il n'y avait aucune interaction de type pharmacocinétique entre les deux traitements qui pourrait justifier ou interférer avec les observations décrites ci-dessus.

En conclusion, les résultats présentés ci-dessus mettent en évidence une synergie d'activité entre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*]

[1,2,3]benzotriazine-4,9-dione et le donépézil en terme de performances cognitives, et ce avec un bon profil de sécurité et sans interaction pharmacocinétique.

EXEMPLE C: Etude des potentiels excitateurs post-synaptiques (EPSP) induits par stimulation électrique chez la souris éveillée

Le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3] benzotriazine-4,9-dione et la rivastigmine ont été évalués en électrophysiologie sur animal éveillé seul après administration orale unique et en coadministration à des doses subactives des deux composés afin d'étudier un potentiel synergique entre ces deux composés au niveau de l'hippocampe. L'étude des EPSP induits par stimulation électrique chez la souris éveillée permet d'étudier de manière physiologique un phénomène électrophysiologique à la base de l'activité neuronale et en lien avec les processus de mémorisation et d'apprentissage. En effet, l'apprentissage et la mémoire nécessitent des changements dans les circuits neuronaux. Aussi, la facilitation des réponses synaptiques par un produit ou une association de produit en agissant sur les potentiels excitateurs post-synaptiques permettrait de faciliter l'apprentissage ou de contrecarrer des déficits mnésiques liés à l'âge ou survenant lors de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (Shapiro, *Arch. Neurol.* 2001, 58, 874-881).

Les études ont été effectuées comme ci-après :

Des souris C57BL/6 âgées de 3 mois sont anesthésiées avec 0,8-3 % d'halothane délivré à l'aide d'un masque. Une fois anesthésiées, des électrodes de stimulation et d'enregistrement sont insérées respectivement dans la voie perforante et le gyrus dentelé de l'hippocampe des animaux. Suite à l'implantation des électrodes, les souris sont maintenues entre 5 à 7 jours dans des cages avec libre accès à la nourriture et à l'eau afin de permettre une récupération complète. Chaque animal implanté est seul par cage jusqu'à la fin de l'expérience.

Après récupération, une ligne de base stable de réponses évoquées est induite en utilisant des impulsions par paire (durée d'impulsion de 100 µs, négatif-positif) administrées à 3 impulsions/minute à l'électrode de stimulation située dans la voie perforante. Les

intervalles entre impulsions sont fixés à 40 ms (Gruart et al., *J. Neurosci.* 2006, 24, 1077-1087). Les EPSP de champ sont surveillés jusqu'à ce qu'une ligne de base stable soit obtenue (pendant 30 minutes). Ensuite, les produits ou le véhicule sont administrés et les potentiels de champ évoqués sont enregistrés. Les composés sont administrés *per os* seuls ou en coadministration aux doses suivantes : rivastigmine (0,03 mg/kg, p.o.) ; 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3] benzotriazine-4,9-dione (composé appelé S sur la Figure 4 ; 3 mg/kg, p.o.) ; véhicule (1 % (w/v) hydroxyéthylcellulose et 1 % (v/v) polysorbate 80 dans de l'eau distillée). Pour des raisons de cinétique en lien avec le t_{max} de chacun des produits, l'administration des composés a été réalisée comme suit : le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione et la rivastigmine ont été administrés par gavage, respectivement, 45 minutes et 30 minutes avant l'induction des impulsions par paire telles que décrites ci-dessus. Afin que les groupes d'animaux soient homogènes, les animaux recevant qu'un seul des deux produits, reçoivent du véhicule lors de la deuxième administration. Puis, les potentiels évoqués sont enregistrés pendant approximativement 2,5 heures après la dernière administration de composé ou de véhicule.

Les résultats indiquent qu'au niveau de la ligne de base, tous les groupes sont identiques (différence non significative) (cf. Figure 4, « baseline »). Suite à l'administration des différents composés, les résultats sont statistiquement significatifs (ANOVA deux facteurs entre les traitements et les sessions ; $p < 0,001$). Les analyses *post hoc* montrent :

- qu'administré seul à la dose unique de 3 mg/kg p.o., le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione n'induit pas de modification significative des amplitudes des EPSP de champ par rapport au groupe véhicule, excepté à 3 temps isolés (à 45, à 115 et à 120 minutes après l'induction des impulsions par paire), indiquant qu'il s'agit d'une dose subactive (cf. Figure 4, courbe avec triangles et Tableau 1) ;
- qu'administrée seule à la dose unique de 0,03 mg/kg, la rivastigmine n'induit pas de modification significative des amplitudes des EPSP de champ par rapport au groupe véhicule, excepté à 3 temps isolés (à 45, à 65 et à 115 minutes après l'induction des impulsions par paire), indiquant qu'il s'agit d'une dose subactive (cf. Figure 4, courbe avec carrés et Tableau 1) ;

- l'association des deux composés, le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione à la dose unique de 3 mg/kg p.o. et la rivastigmine à la dose unique de 0,03 mg/kg p.o. induit une augmentation significative des amplitudes des EPSP de champ par rapport au groupe véhicule sur la quasi-totalité de la période d'enregistrement (en particulier de 25 à 80 minutes puis de 90 à 95 minutes, puis de 105 à 130 minutes et de 140 à 150 minutes après l'administration de la rivastigmine ; $p < 0,05$) (cf. Figure 4, courbe avec croix et Tableau 1).

Tableau 1 : Résultats des analyses *post hoc*

Temps	VEHICULE		
	0,03 mg/kg rivastigmine	3.0 mg/kg Composé S	0,03 mg/kg rivastigmine + 3.0 mg/kg Composé S
Baseline-30	0,681	0,621	0,625
Baseline-25	0,987	0,997	0,997
Baseline-20	0,985	1,000	0,977
Baseline-15	0,135	0,399	0,348
Baseline-10	0,869	0,989	0,992
Baseline-5	0,705	0,886	0,921
5 minutes	0,725	0,277	0,183
10 minutes	0,939	0,954	0,449
15 minutes	0,833	0,549	0,265
20 minutes	0,861	0,960	0,633
25 minutes	0,639	0,205	**0,015**
30 minutes	0,853	0,424	**0,032**
35 minutes	0,894	0,738	**0,081**
40 minutes	0,241	0,229	**0,003**
45 minutes	**0,028**	**0,007**	**< 0,001**
50 minutes	0,660	0,244	**0,034**
55 minutes	0,230	0,310	**< 0,001**
60 minutes	0,225	0,243	**0,002**
65 minutes	**0,014**	0,118	**0,002**
70 minutes	0,530	0,584	**0,024**
75 minutes	0,254	0,284	**0,005**
80 minutes	0,904	0,856	**0,003**
85 minutes	0,972	0,980	0,156
90 minutes	0,356	0,596	**0,014**
95 minutes	0,526	0,197	**0,043**
100 minutes	0,971	0,592	0,161
105 minutes	0,558	0,688	**0,011**
110 minutes	0,632	0,601	**0,056**
115 minutes	**0,007**	**0,002**	**< 0,001**
120 minutes	0,163	**0,007**	**< 0,001**

Temps	VEHICULE		
	0,03 mg/kg rivastigmine	3.0 mg/kg Composé S	0,03 mg/kg rivastigmine + 3.0 mg/kg Composé S
125 minutes	0,251	0,243	**0,006**
130 minutes	0,311	0,521	**0,016**
135 minutes	0,536	0,979	0,103
140 minutes	0,323	0,337	**0,001**
145 minutes	0,810	0,810	**0,007**
150 minutes	0,413	0,362	**< 0,001**

Les résultats mettent clairement en évidence que l'administration de 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione et de rivastigmine en association permet d'obtenir un effet synergique important tout à fait inattendu.

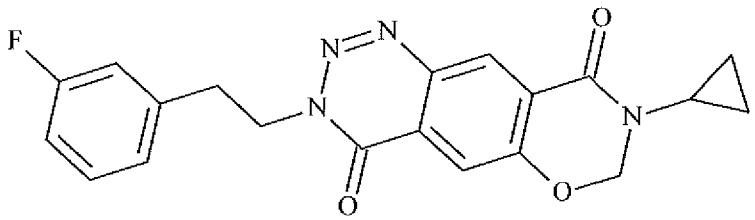
EXEMPLE D : Composition pharmaceutique

Formule de préparation pour 1000 comprimés dosés à 5 mg en 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione et 10 mg d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase choisi parmi donépézil, rivastigmine ou galantamine :

8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3] benzotriazine-4,9-dione ..... 5 g
Inhibiteur de l'acétylcholinestérase ..... 10 g
Amidon de maïs ..... 20 g
Maltodextrine ..... 7,5 g
Silice colloïdale ..... 0,2 g
Glycolate d'amidon de sodium ..... 3 g
Stéarate de magnésium ..... 1 g
Lactose ..... 55 g

REVENDICATIONS

1. Association entre le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione de formule (I) :



(I)

ou un de ses sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase.

2. Association selon la revendication 1 caractérisée en ce que le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione est utilisé sous la forme de base.

3. Association selon la revendication 1 ou 2 caractérisée en ce que l'inhibiteur de l'acétylcholinestérase est le donépézil, la rivastigmine ou la galantamine.

4. Association selon la revendication 3 caractérisée en ce que le donépézil est utilisé sous forme d'un chlorhydrate.

5. Association selon l'une des revendications 1 à 4 caractérisée en ce que le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-dione est administré à la dose journalière comprise entre 1 et 200 mg en équivalent base.

6. Composition pharmaceutique contenant comme principe actif le 8-cyclopropyl-3-[2-(3-fluorophényl)éthyl]-7,8-dihydro-3*H*-[1,3]oxazino[6,5-*g*][1,2,3]benzotriazine-4,9-

dione, ou un de ses sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, en association avec un inhibiteur de l'acétylcholinestérase selon l'une des revendications 1 à 5 en combinaison avec un ou plusieurs excipients pharmaceutiquement acceptables.

7. Composition pharmaceutique selon la revendication 6 pour son utilisation dans le traitement des troubles cognitifs associés au vieillissement cérébral et aux maladies neurodégénératives.

8. Composition pharmaceutique selon la revendication 7 pour son utilisation dans le traitement des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer.

9. Composition pharmaceutique selon la revendication 8 pour son utilisation dans le traitement des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer chez les patients ayant des symptômes dépressifs.

10. Utilisation d'une association selon l'une des revendications 1 à 5 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des troubles cognitifs associés au vieillissement cérébral et aux maladies neurodégénératives.

11. Utilisation d'une association selon la revendication 10 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer.

12. Utilisation d'une association selon la revendication 11 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer chez les patients ayant des symptômes dépressifs.

13. Association selon l'une des revendications 1 à 5 pour le traitement des troubles cognitifs associés au vieillissement cérébral et aux maladies neurodégénératives.

14. Association selon la revendication 13 pour le traitement des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer.

15. Association selon la revendication 14 pour le traitement des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer chez les patients ayant des symptômes dépressifs.