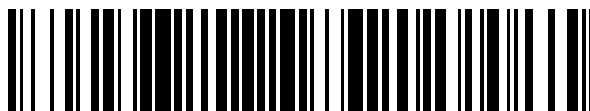


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 392**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/47** (2006.01)  
**A61K 31/445** (2006.01)  
**A61P 9/10** (2006.01)  
**A61P 25/00** (2006.01)  
**A61P 25/14** (2006.01)  
**A61P 25/16** (2006.01)  
**A61P 25/28** (2006.01)  
**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08836702 .4**  
96 Fecha de presentación: **02.10.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2193793**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.06.2010**

54 Título: **Inhibidor de la muerte de las neuronas**

30 Prioridad:  
**03.10.2007 JP 2007259682**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**25.10.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**25.10.2012**

73 Titular/es:  
**KOWA COMPANY, LTD. (100.0%)**  
**6-29, NISHIKI 3-CHOME NAKA-KU**  
**NAGOYA-SHI, AICHI-KEN 460-8625, JP**

72 Inventor/es:  
**SATO, FUMIYASU;**  
**YOSHINAKA, YASUNOBU y**  
**AOKI, TARO**

74 Agente/Representante:  
**LEHMANN NOVO, Isabel**

ES 2 389 392 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Inhibidor de la muerte de las neuronas

## 5 Campo técnico

La presente invención se refiere a un inhibidor de la muerte de las neuronas y, en particular, a un agente protector de los nervios cerebrales con una acción inhibitoria de la muerte de las neuronas. Más en particular, la presente invención se refiere a un inhibidor de la evolución de una enfermedad demencial tal como demencia degenerativa, que se representa por demencia vascular o demencia de tipo Alzheimer; un agente profiláctico y/o terapéutico para enfermedades demenciales tales como demencia degenerativa, que se representa por demencia vascular o demencia de tipo Alzheimer; un agente profiláctico contra la reaparición de infarto cerebral o un agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral, teniendo el agente una acción inhibitoria de la muerte de las neuronas.

## 15 Antecedentes

Junto con la dinámica del envejecimiento de la población, un aumento en el número de pacientes en un estado de función cognitiva disminuida, esto es, pacientes con una enfermedad demencial, plantea un problema social. La enfermedad demencial se define como "un estado en que se ha deteriorado la función de la memoria y otras funciones cognitivas hasta el punto de que afecta a la vida cotidiana por los cambios orgánicos que tienen lugar en el cerebro como resultado de enfermedades cerebrovasculares, enfermedad de Alzheimer y otros factores".

La demencia se clasifica en gran parte en demencia vascular y demencia degenerativa basada en la causa, pero todas ellas dan como resultado el deterioro de las neuronas. En la situación actual en que no se conocen métodos eficaces para recuperarse de la misma, la inhibición de la evolución de la enfermedad será el principal objetivo.

Conocida como un tipo de demencia degenerativa, se estima que la demencia de tipo Alzheimer afecta a aproximadamente 18 millones de pacientes en el mundo, estando previsto que aumente más el número en el futuro y se espera el desarrollo de un método para prevención o un método para tratamiento. Como características patológicas de la demencia de tipo Alzheimer, se pueden mencionar la atrofia del tejido cerebral y la aparición de placa senil en el córtex cerebral y se encuentra que la placa senil está asociada a la deposición de  $\beta$ -amiloide.

Como método para tratar la demencia de tipo Alzheimer, existe un desarrollo conocido de un nuevo fármaco basado en la hipótesis colinérgica (Documento 1 No de Patente) o un nuevo fármaco basado en la hipótesis de la cascada amiloide (Documento 2 No de Patente).

Entre ellos, la hipótesis colinérgica se basa en el hecho de que la actividad de la acetilcolina sintetasa se reduce de manera específica en el córtex cerebral de los pacientes con demencia de tipo Alzheimer y la hipótesis está asociada a una perspectiva de que el enriquecimiento de la cantidad de acetilcolina por cualquier medio conducirá al tratamiento. Como agente terapéutico basado en esta hipótesis, se ha creado hidrocloreto de donepezilo que presenta una actividad inhibitoria frente a la acetilcolinesterasa, una enzima que degrada la acetilcolina y está produciendo ciertos efectos. Sin embargo, como el fármaco basado en la hipótesis colinérgica está fijado como objetivo para el refuerzo de circuitos neurales, hay límites en la eficacia del fármaco con respecto al hecho de que las neuronas siguen deteriorándose, junto con la evolución de la enfermedad.

Por otra parte, la hipótesis de la cascada amiloide se asocia con una perspectiva de que la agregación y deposición de  $\beta$ -amiloide ocasiona cambios en las neurofibrillas, causando finalmente la muerte de las neuronas y la prevención de la deposición de  $\beta$ -amiloide conducirá al tratamiento. Como fármaco terapéutico basado en esta hipótesis, se prevé el desarrollo de un inhibidor contra  $\gamma$ -secretasa, una vacuna y similar, pero debido a los problemas de efectos secundarios adversos, la comercialización del mismo aún no se ha conseguido (Documento 3 No de Patente).

Como otra solución, basada en el informe de datos epidemiológicos que muestran que los pacientes que toman un inhibidor de la HMG-CoA reductasa (de ahora en adelante, también se puede referir como una estatina), que es un agente terapéutico para hiperlipidemia, presentan una baja tasa de morbilidad para demencia de tipo Alzheimer (Documento 4 No de Patente) o el hallazgo de que las estatinas disminuyen la producción de  $\beta$ -amiloide, se ha indicado una posibilidad de utilizar estatinas como agente terapéutico para demencia de tipo Alzheimer (Documentos 1 a 8 de Patente). También se ha indicado que las estatinas presentan una acción inhibitoria contra la formación de complejos activos de  $\gamma$ -secretasa (Documento 9 de Patente).

Se encuentran los siguientes informes con respecto a la acción de los fármacos ya mencionados sobre la muerte de las neuronas. Específicamente, se sabe que el hidrocloreto de donepezilo presenta una acción protectora contra la neurotoxicidad de  $\beta$ -amiloide o ácido glutámico (Documentos 5 y 6 No de Patente) o una acción protectora de las neuronas en un modelo isquémico (Documento 7 No de Patente). Sin embargo, todos éstos representan resultados obtenidos *in vitro* y puesto que la concentración que presenta una acción protectora de los nervios requiere una

dosis mayor que la concentración que presenta una acción inhibitoria de la acetilcolinesterasa, no es seguro en cuanto a si se manifiesta la acción protectora de las neuronas en pacientes a los que se administra el fármaco o no.

5 Además, en el caso de las estatinas, se indica que una estatina suprime un aumento en el tamaño del infarto cerebral en un modelo animal de isquemia cerebral transitoria (Documento 8 No de Patente) y se sabe que una estatina presenta una acción protectora de las neuronas por una acción supresora sobre la reducción de la superóxido dismutasa (Documento 9 No de Patente).

10 También se conoce un informe de que se asocian un inhibidor de la acetilcolinesterasa tal como hidrocloreto de donepezilo y una estatina y se aplican a una demencia de tipo Alzheimer (Documento 10 de Patente). Sin embargo, este documento no presenta ningún dato específico y no es seguro de manera específica qué combinación de fármacos sería óptima. Además de eso, hay resultados clínicos conocidos, obtenidos por el uso de galantamina, que es un inhibidor de la acetilcolinesterasa y una estatina en asociación y se señala que en el caso de tratamiento asociado, el riesgo de efectos secundarios adversos aumenta en comparación con el caso de tratamiento con un único fármaco (Documento 11 de Patente). Sin embargo, no se indica que el hidrocloreto de donepezilo presente una acción protectora de los nervios contra la isquemia cerebral transitoria.

20 Entre la técnica anterior adicional, la patente internacional WO 2007/088705 A1 desvela un remedio para diabéticos caracterizado por contener pitavastatina o su derivado y enalapril o su sal.

Entre la técnica anterior adicional, Miida et al., Pharmacol. Ther., 113: 378-393 resumen ensayos clínicos que examinan los efectos preventivos del tratamiento con estatina sobre la apoplejía y la demencia.

25 Por otra parte, Roman et al., European Neuropsychopharmacology, 16 (4): S481-S482, 2.006 informan sobre la eficacia y la seguridad de donepezilo en la demencia vascular discutiendo resultados del mayor estudio de doble ciego en pacientes con demencia vascular.

30 Entre la técnica anterior adicional, Tounai et al., Metab Brain Dis, 22: 89-104, 2.007 indican el efecto de la pitavastatina en un estudio inmunohistoquímico sobre la distribución de NF-κB y p53 en hipocampo de jerbos después de isquemia cerebral transitoria.

35 Por otra parte, Kumagai et al., J. Neural. Transm. 111: 1.103-1.120, 2.004 señalan que la pitavastatina, como un inhibidor de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa, reduce el daño del hipocampo después de isquemia cerebral transitoria en jerbos.

40 Como se ha discutido hasta ahora, un fármaco que presenta de manera satisfactoria acción inhibitoria de la muerte de las neuronas eficaz contra enfermedades demenciales incluyendo demencia de tipo Alzheimer, aún no existe, y se desea proporcionar dicho fármaco. Además, un fármaco con una acción inhibitoria de la muerte de las neuronas eficaz también es útil como agente profiláctico contra la reaparición de infarto cerebral y, por lo tanto, un agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral, además de enfermedades demenciales.

[Documento 1 de Patente] Patente Internacional WO 02/062824

45 [Documento 2 de Patente] Patente Internacional WO 01/096311

[Documento 3 de Patente] Patente Internacional WO 01/032161

[Documento 4 de Patente] Patente Internacional WO 00/028981

50 [Documento 5 de Patente] Patente Internacional WO 99/048488

[Documento 6 de Patente] Patente de EE.UU. Nº 6472421

55 [Documento 7 de Patente] Patente de EE.UU. Nº 6440387

[Documento 8 de Patente] Patente de EE.UU. Nº 6080778

[Documento 9 de Patente] Patente Internacional WO 2005/063294

60 [Documento 10 de Patente] Patente Internacional WO 2005/099823

[Documento 11 de Patente] Patente Internacional WO 03/082298

65 [Documento 1 No de Patente] Science, 219: 1.184-1.190, 1.983

[Documento 2 No de Patente] Science, 256: 184-185, 1.992

[Documento 3 No de Patente] Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98: 9.312-9.317, 2.001.

5 [Documento 4 No de Patente] Arch. Neurol., 57: 1.439-1.443, 2.000

[Documento 5 No de Patente] Neuroreport, 9: 1.519-1.522, 1.998

10

[Documento 6 No de Patente] J. Pharmacol. Exp. Ther., 306: 772-777, 2.003.

[Documento 7 No de Patente] Eur. J. Pharmacol., 472: 57-63, 2.003.

[Documento 8 No de Patente] Brain Research, 1.037: 52-58, 2.005

15

[Documento 9 No de Patente] Therapeutic Research, 26: 1.277-1.286, 2.005.

Descripción de la invención

20

Problemas que se tienen que resolver por la invención

La presente invención es para proporcionar un fármaco que presente una excelente acción inhibitoria de la muerte de las neuronas.

25

Medios para resolver los problemas

30

Bajo tales circunstancias, los autores de la presente invención realizaron con devoción investigaciones y como resultado, encontraron sorprendentemente que cuando se usa una pitavastatina tal como pitavastatina cálcica y donepezilo o una sal del mismo en asociación, se obtiene una acción inhibitoria de la muerte de las neuronas notable, específica para esta asociación, completando así la presente invención. Actualmente, no ha habido ningún informe sobre en qué grado se manifestaría la acción inhibitoria de la muerte de las neuronas en un ejemplo de asociación de una pitavastatina y donepezilo o una sal del mismo.

Específicamente, la presente invención proporciona lo siguiente:

35

(1) Un inhibidor de la muerte de las neuronas que comprende una pitavastatina y donepezilo o una sal del mismo en asociación;

(2) El inhibidor de la muerte de las neuronas según (1), en el que la pitavastatina es pitavastatina cálcica;

40

(3) El inhibidor de la muerte de las neuronas según (1) o (2), en el que la sal de donepezilo es hidrocloreto de donepezilo;

45

(4) El inhibidor de la muerte de las neuronas según una cualquiera de (1) a (3), en el que se usa una preparación que contiene una pitavastatina y una preparación que contiene donepezilo o una sal del mismo, en asociación;

(6) El inhibidor de la muerte de las neuronas según una cualquiera de (1) a (4), para uso como un agente profiláctico y/o terapéutico para una enfermedad demencial;

50

(7) El inhibidor de la muerte de las neuronas para uso según (6), en el que el agente profiláctico y/o terapéutico para una enfermedad demencial es un inhibidor de la evolución para una enfermedad demencial;

(8) El inhibidor de la muerte de las neuronas para uso según (6) o (7), en el que la enfermedad demencial es demencia vascular o demencia degenerativa;

55

(9) El inhibidor de la muerte de las neuronas para uso según (8), en el que la demencia degenerativa es demencia de tipo Alzheimer;

60

(10) El inhibidor de la muerte de las neuronas para uso según una cualquiera de (1) a (4), en el que el inhibidor de la muerte de las neuronas es un agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral;

(11) El inhibidor de la muerte de las neuronas para uso según (10), en el que el agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral es un agente profiláctico contra la reaparición de infarto cerebral;

65

Se describen además en la presente memoria los siguientes aspectos:

- (12) Una composición farmacéutica que contiene una pitavastatina, donepezilo o una sal del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable;
- 5 (13) La composición farmacéutica según (12) anterior, en la que la pitavastatina es pitavastatina cálcica;  
(14) La composición farmacéutica según (12) o (13) anterior, en la que la sal de donepezilo es hidrocloreto de donepezilo;
- 10 (15) La composición farmacéutica según una cualquiera de (12) a (14) anterior, en la que se administra una preparación que contiene una pitavastatina y una preparación que contiene donepezilo o una sal del mismo, en asociación;
- (16) La composición farmacéutica según una cualquiera de (12) a (15) anterior, en la que la composición farmacéutica se destina a la inhibición de la muerte de las neuronas;
- 15 (17) La composición farmacéutica según una cualquiera de (12) a (16) anterior, en la que la composición farmacéutica se destina a la protección de nervios cerebrales;
- (18) La composición farmacéutica según una cualquiera de (12) a (17) anterior, en la que la composición farmacéutica se destina a la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad demencial;
- 20 (19) La composición farmacéutica según (18) anterior, en la que la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad demencial es para inhibir la evolución de una enfermedad demencial;
- (20) La composición farmacéutica según (18) o (19) anterior, en la que la enfermedad demencial es demencia vascular o demencia degenerativa;
- 25 (21) La composición farmacéutica según (20) anterior, en la que la demencia degenerativa es demencia de tipo Alzheimer;
- 30 (22) La composición farmacéutica según una cualquiera de (12) a (15) anterior, en la que la composición farmacéutica se destina a la prevención y/o el tratamiento de infarto cerebral;
- (23) La composición farmacéutica según (22) anterior, en la que la prevención y/o el tratamiento de infarto cerebral se destina a la prevención de la reaparición de infarto cerebral;
- 35 (24) Uso de las composiciones anteriores en un método para inhibir la muerte de las neuronas en un paciente, incluyendo el método administrar al paciente una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que contiene una pitavastatina, donepezilo o una sal del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable, siendo la cantidad suficiente para inhibir la muerte de las neuronas;
- 40 (25) Uso de las composiciones anteriores en un método para proteger las neuronas en un paciente, incluyendo el método administrar al paciente una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que contiene una pitavastatina, donepezilo o una sal del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable, siendo la cantidad suficiente para proteger los nervios cerebrales;
- 45 (26) El uso según (24) o (25) anterior, en el que la pitavastatina es pitavastatina cálcica;
- (27) El uso según una cualquiera de (24) a (26) anterior, en el que la sal de donepezilo es hidrocloreto de donepezilo;
- 50 (28) El uso según una cualquiera de (24) a (27) anterior, en el que se administra una preparación que contiene una pitavastatina y una preparación que contiene donepezilo o una sal del mismo, en asociación;
- (29) El uso según una cualquiera de (24) a (28) anterior, en el que la inhibición de la muerte de las neuronas o la protección de los nervios cerebrales se destina a la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad demencial;
- 55 (30) El uso según (29) anterior, en el que la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad demencial es para inhibir la evolución de una enfermedad demencial;
- (31) El uso según (29) o (30) anterior, en el que la enfermedad demencial es demencia vascular o demencia degenerativa;
- 60 (32) El uso según (31) anterior, en el que la demencia degenerativa es demencia de tipo Alzheimer;

(33) Uso de las composiciones anteriores en un método para prevenir y/o tratar el infarto cerebral en un paciente, incluyendo el método administrar al paciente una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que contiene una pitavastatina, donepezilo o una sal del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable, siendo la cantidad suficiente para la prevención y/o el tratamiento de infarto cerebral;

5 (34) El uso según (33) anterior, en el que la prevención y/o el tratamiento del infarto cerebral es la prevención de la reaparición de infarto cerebral;

(35) Uso de una asociación de una pitavastatina y donepezilo o una sal del mismo, para la fabricación de un inhibidor de la muerte de las neuronas;

10 (36) Uso de una asociación de una pitavastatina y donepezilo o una sal del mismo, para la fabricación de un agente protector de los nervios cerebrales;

15 (37) El uso según (35) o (36) anterior, en el que la pitavastatina es pitavastatina cálcica;

(38) El uso según una cualquiera de (35) a (37) anterior, en el que la sal de donepezilo es hidrocloreuro de donepezilo;

20 (39) El uso según una cualquiera de (35) a (38) anterior, en el que el uso de una asociación de una pitavastatina y donepezilo o una sal del mismo es para usar una preparación que contiene una pitavastatina y una preparación que contiene donepezilo o una sal del mismo, en asociación;

(40) El uso según una cualquiera de (35) a (39) anterior, en el que el inhibidor de la muerte de las neuronas o agente protector de los nervios cerebrales se destina a la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad demencial;

25 (41) El uso según (40) anterior, en el que la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad demencial es para inhibir la evolución de una enfermedad demencial;

30 (42) El uso según (40) o (41) anterior, en el que la enfermedad demencial es demencia vascular o demencia degenerativa;

(43) El uso según (42) anterior, en el que la demencia degenerativa es demencia de tipo Alzheimer;

35 (44) Un uso de una asociación de una pitavastatina y donepezilo o una sal del mismo, para la fabricación de un agente profiláctico y/o agente terapéutico para infarto cerebral y

(45) El uso según (44) anterior, en el que el agente preventivo y/o agente terapéutico para infarto cerebral se destina a la prevención de la reaparición de infarto cerebral.

40 Efectos de la invención

Según la presente invención, se puede proporcionar un inhibidor de la muerte de las neuronas que presenta una excelente acción inhibidora de la muerte de las neuronas y se puede proporcionar un agente protector de los nervios cerebrales, un inhibidor de la evolución de una enfermedad demencial, un agente profiláctico y/o terapéutico para una enfermedad demencial, un agente profiláctico contra la reaparición de infarto cerebral y un agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral.

Breve descripción de los dibujos

50 La Fig. 1 es un gráfico que muestra los efectos de administraciones individuales o administración asociada de pitavastatina y Aricept (hidrocloreuro de donepezilo) en la muerte de las neuronas.

La Fig. 2 es un gráfico que muestra los efectos de administraciones individuales o administración asociada de simvastatina y Aricept (hidrocloreuro de donepezilo) en la muerte de las neuronas.

55 Mejor modo para llevar a cabo la invención

Las pitavastatinas usadas en la presente invención incluyen pitavastatina y una sal de la misma y un derivado de lactona del compuesto o la sal y también un solvato de éstos con un disolvente que es aceptable como producto farmacéutico, tal como un hidrato del compuesto, la sal o el derivado de lactona. Las pitavastatinas presentan una actividad inhibidora de la síntesis del colesterol basada en la acción inhibidora de la HMG-CoA reductasa y se conocen como agente terapéutico para hiperlipidemia. Ejemplos de la sal de pitavastatina incluyen sales de metal alcalino tales como sal de sodio y sal de potasio; sales de metal alcalino-térreo tales como sal de calcio y sal de magnesio; sales de amina orgánica tales como sal de fenetilamina o sales de amonio y similares. Entre éstos, en

cuanto a la pitavastatina, se prefiere una sal de pitavastatina y se prefiere en particular una sal de calcio y una sal de sodio.

Se puede producir una pitavastatina por los métodos descritos en la Patente de EE.UU. N° 5856336 y la Patente japonesa JP-A N° 1-279866.

El donepezilo o una sal del mismo, usados en la presente invención, son conocidos como agente terapéutico para la demencia de tipo Alzheimer en base a la acción inhibitora de la acetilcolinesterasa y se puede producir fácilmente hidrocloreto de donepezilo por un método conocido, por ejemplo, un método desvelado en las patentes japonesas JP-A N° 1-79151, JP-A N° 07-252216, JP-A N° 11-263774, JP-A N° 11-171861 o similares. Se puede obtener fácilmente hidrocloreto de donepezilo como producto comercialmente disponible (nombre comercial "Aricept"). La sal de donepezilo no está limitada en particular mientras sea una sal farmacéuticamente aceptable y los ejemplos de la misma incluyen: sales de ácido inorgánico tales como hidrocloreto, sulfato, nitrato, hidrobromuro y fosfato; sales de ácido orgánico tal como acetato, trifluoroacetato, fumarato, maleato, lactato, tartrato, citrato, succinato, malonato, metanosulfonato y p-toluenosulfonato y similares. Entre éstos, se prefiere el hidrocloreto.

La presente invención implica un inhibidor de la muerte de las neuronas que comprende una pitavastatina y donepezilo o una sal del mismo, en asociación. Como se muestra en los Ejemplos que se describirán más adelante, en un modelo de rata para revascularización de la oclusión de la arteria vertebral-carótida (isquemia de punto 4), cuando se usó una pitavastatina y donepezilo o una sal del mismo en asociación, se inhibió de manera significativa la muerte de las neuronas en la región CA1 del hipocampo y presentó una fuerte acción inhibitora de la muerte de las neuronas, en comparación con el caso en que los dos fármacos se administraban cada uno de manera individual. Por lo tanto, el medicamento de la presente invención es útil como inhibidor de la muerte de las neuronas. El inhibidor de la muerte de las neuronas de la presente invención es útil además como agente protector de los nervios cerebrales, un inhibidor de la evolución de una enfermedad demencial, un agente profiláctico y/o terapéutico para una enfermedad demencial, un agente profiláctico contra la reaparición de infarto cerebral y un agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral. Ejemplos de la enfermedad demencial incluyen demencias vasculares tales como tipo de isquemia extendida a demencia multi-infarto (incluyendo leucoencefalopatía tipo Binswanger), tipo infarto cerebral múltiple, tipo infarto cerebral focal y demencia vascular hereditaria (CADASIL o similares) y demencias degenerativas tales como demencia de tipo Alzheimer (enfermedad de Alzheimer (AD) o demencia senil de tipo Alzheimer (SDAT) (ambas por sus siglas en inglés)), degeneración lobar frontotemporal (demencia frontotemporal; FTD, enfermedad de Pick o similares), demencia de tipo cuerpos de Lewy (enfermedad de cuerpos de Lewy difusa (DLBD, por sus siglas en inglés) o similares), enfermedad de Parkinson (PD, por sus siglas en inglés) con demencia, demencia senil de tipo variación de neurofibrillas, demencia granular de argentaffin, enfermedad de Huntington, parálisis supranuclear progresiva y degeneración corticobasal gangliónica; así como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, demencia asociada al VIH y similares. Entre estas enfermedades demenciales, el inhibidor de la muerte de las neuronas de la presente invención es útil en particular como inhibidor de la evolución de la demencia de tipo Alzheimer o un agente profiláctico y/o terapéutico para la demencia de tipo Alzheimer.

La forma farmacéutica del medicamento o composición farmacéutica usada no está limitada en particular y se puede seleccionar de manera apropiada según el fin terapéutico. Los ejemplos de la forma farmacéutica incluyen administración oral por medio de comprimidos, cápsulas, gránulos, comprimidos recubiertos de película, polvos, jarabes o similares y administración parenteral por medio de preparaciones inyectables, supositorios, inhalantes, parches de absorción transdérmica, colirios, gotas nasales o similares. Sin embargo, normalmente, se prefiere la administración oral.

En el caso de preparar una preparación sólida oral, se pueden producir comprimidos, gránulos, polvos, cápsulas o similares por un método clásico, después de añadir un excipiente, y si es necesario, un agente aglutinante, un disgregante, un agente deslizante, un colorante, un agente aromatizante, una fragancia y similares. Como tales aditivos, se pueden usar los usados generalmente en la técnica pertinente y los ejemplos de los mismos incluyen, como excipiente, lactosa, cloruro de sodio, glucosa, almidón, celulosa microcristalina, ácido silícico y similares; como agente aglutinante, agua, etanol, propanol, jarabe simple, disolución de gelatina, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, goma laca, fosfato de calcio, polivinilpirrolidona y similares; como disgregante, agar en polvo, hidrógenocarbonato de sodio, laurilsulfato de sodio, monoglicérido de ácido esteárico y similares; como agente deslizante, talco purificado, sales de ácido esteárico, bórax, polietilenglicol y similares; como colorante,  $\beta$ -carotina, sesquióxido de hierro amarillo, caramelo y similares; y como agente aromatizante, sacarosa, piel de naranja y similares.

En el caso de preparación de una preparación líquida oral, una preparación líquida interna, un jarabe, un elixir o similar se puede preparar por un método clásico, añadiendo un agente aromatizante, un agente amortiguador, un estabilizante, un conservante y similares. Como tales aditivos, se pueden usar los usados generalmente en la técnica pertinente, y los ejemplos de los mismos incluyen, como agente aromatizante, sacarosa y similares; como agente amortiguador, citrato de sodio y similares; como estabilizante, tragacanto y similares; y como conservante, éster del ácido paraoxibenzoico y similares.

En el caso de preparar una preparación inyectable, se puede producir una preparación inyectable transdérmica, intramuscular o intravenosa por un método clásico, añadiendo un agente para ajustar el pH, un estabilizante, un agente isotónico y similares. Como tales aditivos, se pueden usar los usados generalmente en la técnica pertinente y los ejemplos de los mismos incluyen, como agente para ajustar el pH, fosfato de sodio y similares; como estabilizante, piro-sulfito de sodio y similares y como agente isotónico, cloruro de sodio y similares.

Con respecto a la forma de uso, el inhibidor de la muerte de las neuronas de la presente invención utiliza una pitavastatina y donepezilo o una sal del mismo en asociación y se puede usar como inhibidor de la muerte de las neuronas que es sinérgico como resultado de la administración de los dos fármacos y en la forma capaz de obtener los efectos de protección de los nervios cerebrales, inhibir la evolución de la demencia de tipo Alzheimer, evitar y/o tratar la demencia de tipo Alzheimer, evitar la reaparición de infarto cerebral y evitar y/o tratar el infarto cerebral, sin limitarse a estas formas de uso. La pitavastatina y el donepezilo o una sal del mismo, se pueden administrar simultáneamente o se pueden administrar también por separado en un intervalo. Esto es, en cuanto a la pitavastatina y el donepezilo o una sal del mismo, se pueden formular los dos fármacos en una sola preparación o se pueden formular los dos fármacos en preparaciones separadas y se usan como un conjunto (estuche).

En el caso de administrar los dos fármacos en una sola preparación, la relación de mezcla de una pitavastatina y donepezilo o una sal del mismo, está preferiblemente en el intervalo de 1:0,005 a 1: 500 y más preferiblemente en el intervalo de 1:0,1 a 1:10, desde el punto de vista de obtener un efecto sinérgico particularmente excelente.

Además, según la presente invención, en el caso de formular los dos fármacos en preparaciones separadas, se puede proporcionar la preparación que contiene una pitavastatina como inhibidor de la muerte de las neuronas que se administra junto con donepezilo o una sal del mismo y también se puede usar como agente protector de los nervios cerebrales, un inhibidor de la evolución de una enfermedad demencial, un agente profiláctico y/o terapéutico para una enfermedad demencial, un agente profiláctico contra la reaparición de infarto cerebral o un agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral, que se administra junto con donepezilo o una sal del mismo. Por otra parte, la preparación que contiene donepezilo o una sal del mismo se proporciona como inhibidor de la muerte de las neuronas que se administra junto con una pitavastatina y también se puede usar como agente protector de los nervios cerebrales, un inhibidor de la evolución de una enfermedad demencial, un agente profiláctico y/o terapéutico para una enfermedad demencial, un agente profiláctico contra la reaparición de infarto cerebral o un agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral, que se administra junto con una pitavastatina. Las formas farmacéuticas de los dos fármacos pueden ser idénticas o pueden ser diferentes. El número de administraciones de los respectivos componentes también puede ser diferente.

La dosis de pitavastatina se puede seleccionar de manera apropiada según el peso corporal, la edad, el género, los síntomas y similares del paciente y normalmente en el caso de un adulto, se pueden administrar 0,01 a 50 mg, preferiblemente 0,1 a 20 mg y más preferiblemente 1 a 10 mg, al día. Además, la dosis de donepezilo o una sal del mismo se puede aumentar o disminuir dependiendo de los síntomas y en el caso de un adulto, se pueden administrar 0,01 a 100 mg, preferiblemente 0,1 a 50 mg y más preferiblemente 1 a 10 mg, al día. La administración se puede realizar una vez o dos veces o más en porciones divididas en un día.

La descripción completa en la memoria descriptiva de la Solicitud de Patente Japonesa N° 2007-259682, que es la aplicación básica de la presente solicitud, se ha incorporado en la presente memoria descriptiva. Además, en la presente memoria descriptiva, la expresión "imbecilidad" en la memoria descriptiva de la aplicación básica se corrigió por "demencia" según la terminología actual.

De ahora en adelante, la presente invención se describirá además por medio de Ejemplos, pero no se desea que la presente invención se limite a estos Ejemplos.

#### **EJEMPLO 1**

Los efectos de la administración asociada de pitavastatina cálcica (de ahora en adelante, descrita como pitavastatina) e hidrocloreuro de donepezilo (de ahora en adelante, descrito con el nombre comercial Aricept) en la muerte de las neuronas en la región CA1 del hipocampo en un modelo de rata para revascularización de la oclusión de la arteria vertebral-carótida (isquemia de punto 4), se evaluaron según los siguientes métodos de ensayo.

##### **1. Animal de ensayo y entorno de crianza**

Se obtuvieron ratas macho Crlj:WI de siete semanas (Charles River Laboratories Japan Inc. ) y se proporcionaron para el experimento después de someterlas a cuarentena (durante 5 días) y aclimatación (durante 7 días o más). Durante todo el periodo de experimentación, las ratas fueron criadas en una cámara de crianza mantenida bajo un ciclo de luz-oscuridad (periodo de luz bajo la luz ambiental: 6:00 AM a 6:00 PM), a una temperatura de  $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$  y una humedad de  $55 \pm 15\%$  y se permitió que tomaran libremente pienso sólido (CRF-1; Oriental Yeast Co., Ltd.) y bebieran agua (agua del grifo).



## 2. Preparación de disolución

Se suspendieron Pitavastatina y Aricept, cada uno, en una disolución acuosa al 0,5% (p/v) de carboximetilcelulosa sódica (de ahora en adelante, CMC-Na, SIGMA) y se prepararon justo antes de su uso de manera que la cantidad de administración fuera 5 ml/kg.

## 3. Método de ensayo

Se dividieron las ratas en 5 grupos (6 muestras en cada grupo) a fin de que los pesos corporales promedio fueran casi uniformes y se agruparon en: (1) grupo normal (grupo no tratado), (2) grupo de control de disolvente, (3) grupo de una única administración de pitavastatina (3 mg/kg), (4) grupo de una única administración de Aricept (0,5 mg/kg) y (5) grupo de administración asociada de pitavastatina (3 mg/kg) y Aricept (0,5 mg/kg).

Se contó el día de agrupamiento como el primer día de administración y se administró por vía oral el fármaco de ensayo una vez al día durante 6 días, por tanto 6 veces en total. Al grupo normal y al grupo de control de disolvente se les administró una disolución acuosa al 0,5% (p/v) de CMC-Na.

El quinto día de administración, se administraron por vía intraperitoneal 35 mg/kg de disolución inyectable de pentobarbital sódico (Nembutal (marca registrada), Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.) a las ratas excluyendo las del grupo normal. Se expusieron los forámenes alares derecho e izquierdo de la primera parte de la columna cervical con anestesia y se solidificaron de manera térmica las arterias vertebrales usando un soldador, de manera que se ocluyeran de manera permanente las arterias vertebrales en ambos lados. Con posterioridad, se expusieron y se despegaron las arterias carótidas comunes en ambos lados y se implantó un tubo de silicona en una forma circular y se suturó.

El sexto día de administración, mientras las ratas excluyendo las del grupo normal se anestesiaron con dietil éter, las arterias carótidas comunes en los dos lados se expusieron por el tubo de silicona implantado y temporalmente ocluido durante 10 minutos usando una abrazadera Sugita (Mizuho Ikkogyo Co., Ltd.) y se suturó la piel.

El quinto día después de la oclusión y revascularización de las arterias carótidas comunes en los dos lados (para el grupo normal, el quinto día después de la administración final), las ratas que se habían anestesiado por un método clásico se sometieron a fijación de infusión intravenosa usando paraformaldehído al 4% (pH 7,4) y después fluido de Bouin (pH 3,5 a 4,0) y se extrajeron los cerebros.

Se deshidrataron los cerebros fijados, se infiltraron y se embebieron en parafina y se produjo una sección con un espesor de 10  $\mu$ m desde la región de Bregma -3,3 mm. Con posterioridad, la sección fue teñida por el método de Nissle y la región CA1 del hipocampo del lado a la derecha se fotografió bajo un microscopio óptico. El número de neuronas se contó usando un analizador de imagen (Win ROOF V5.6, Mitani Corporation) y se midió la longitud de CA1.

## 4. Tratamiento de datos y análisis estadístico

Según la siguiente fórmula, se determinó el número de neuronas por unidad de longitud y se calcularon el valor medio y la desviación estándar para cada grupo.

Número de neuronas CA1 del hipocampo (células/mm) = Número de neuronas de CA1 (células)/unidad de longitud (longitud en el sitio de medición: mm).

En cuanto al ensayo de la diferencia significativa, se realizó un ensayo de la t de Student entre el grupo (1) y el grupo (2) y se realizó el ensayo de comparación múltiple de Dunnett entre el grupo (2) y (3), (4) o (5). En cuanto al nivel de significación, se consideró una proporción peligrosa menor que 5% significativa en todos los ensayos y se expresó por separado el nivel de significación para el caso menor que 5% ( $p < 0,05$ ) y el caso menor que 1% ( $p < 0,01$ ).

Los resultados se presentan en la Fig. 1. El eje vertical en la Fig. 1 representa el número de neuronas (células/mm). En la Fig. 1, el símbolo ## indica que existía una diferencia significativa a  $p < 0,01$ , mientras el símbolo \* indica que existía una diferencia significativa a  $p < 0,05$ . Como se muestra en la Fig. 1, se reconoció que el número de neuronas en la región CA1 del hipocampo en el grupo de control de disolvente había disminuido de manera significativa cuando se compara con el grupo normal.

Se mostró una tendencia de aumento en el número de neuronas en el grupo de única administración de pitavastatina de 3 mg/kg y el grupo de única administración de Aricept de 0,5 mg/kg con respecto al grupo de control de disolvente, pero el resultado no fue significativo. En el grupo de única administración de pitavastatina de 3 mg/kg, aunque hubo un informe de la presencia de diferencia significativa (véase el Documento 9 No de Patente), no se

pudo verificar una diferencia significativa en dicho riguroso método como en el método experimental de la presente invención como se describió anteriormente.

Al contrario, en el grupo de administración asociada de 3 mg/kg de pitavastatina y 0,5 mg/kg de Aricept, se reconoció un aumento significativo en el número de neuronas en la región CA1 del hipocampo cuando se compara con el grupo de control de disolvente y se confirmaron la notable acción y efectos de la presente invención en que los dos fármacos se usan en asociación.

#### EJEMPLO COMPARATIVO 1

Con el fin de verificar la acción de una estatina distinta de pitavastatina, se realizó el ensayo de la misma manera usando simvastatina. Esto es, el animal de ensayo y el entorno de crianza, la preparación de la disolución, el método de ensayo, el tratamiento de los datos y el análisis estadístico se realizaron todos en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, excepto que se usó simvastatina (15 mg/kg) en vez de pitavastatina. Por lo tanto, se usaron cinco grupos de (1) grupo normal (grupo no tratado), (2) grupo de control de disolvente, (3) grupo de administración única de simvastatina (15 mg/kg), (4) grupo de administración única de Aricept (0,5 mg/kg) y (5) grupo de administración asociada de simvastatina (15 mg/kg) y Aricept (0,5 mg/kg) (6 a 9 muestras en cada grupo).

Se adquirió simvastatina de Zhejiang Kangyu Pharmaceutical Co., Ltd. (China) y se proporcionó para el experimento.

Los resultados se presentan en la Fig. 2. El eje vertical en la Fig. 2 representa el número de neuronas (células/mm). En la Fig. 2, el símbolo \*\* indica que existía una diferencia significativa a  $p < 0,01$ . Como se muestra en la Fig. 2, se reconoció que el número de neuronas en la región CA1 del hipocampo en el grupo de control de disolvente había disminuido de manera significativa cuando se compara con el grupo normal.

Se mostró una tendencia de aumento en el número de neuronas en el grupo de única administración de simvastatina de 15 mg/kg y el grupo de única administración de Aricept de 0,5 mg/kg con respecto al grupo de control de disolvente, pero el resultado no fue significativo. Además, en el grupo de administración asociada de 15 mg/kg de simvastatina y 0,5 mg/kg de Aricept, aunque también se reconoció una tendencia de aumento en el número de neuronas en la región CA1 del hipocampo en comparación con el grupo de control de disolvente, la extensión del aumento fue menor que los respectivos casos de administración única y no se pudo confirmar la acción y los efectos de usar los dos fármacos en asociación.

#### Aplicabilidad industrial

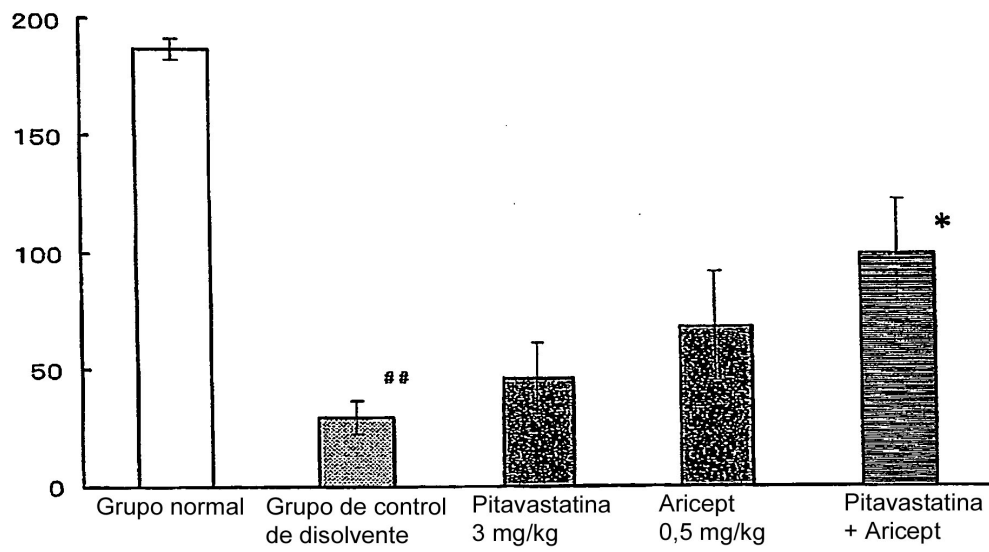
La presente invención es para proporcionar un inhibidor de la muerte de las neuronas que presente una excelente acción inhibidora de la muerte de las neuronas incluso en condiciones extremadamente duras tales como las de un modelo de rata para revascularización de oclusión de arterias vertebral-carótida (isquemia de punto cuatro) y la invención se pueden usar para proporcionar un medicamento útil como agente protector de los nervios cerebrales, un inhibidor de la evolución de una enfermedad demencial, un agente profiláctico y/o terapéutico para una enfermedad demencial, un agente profiláctico contra la reaparición de infarto cerebral y un agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral. Así, la presente invención presenta aplicabilidad industrial en la industria farmacéutica.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un inhibidor de la muerte de las neuronas que comprende una pitavastatina y Donepezilo o una sal del mismo en asociación.
2. El inhibidor de la muerte de las neuronas según la reivindicación 1, en el que la pitavastatina es pitavastatina cálcica.
- 10 3. El inhibidor de la muerte de las neuronas según la reivindicación 1 ó 2, en el que la sal de Donepezilo es Hidrocloruro de donepezilo.
- 15 4. El inhibidor de la muerte de las neuronas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que una preparación que contiene una pitavastatina y una preparación que contiene Donepezilo o una sal del mismo, se usan en asociación.
- 20 5. El inhibidor de la muerte de las neuronas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso como agente profiláctico y/o terapéutico para una enfermedad demencial.
6. El inhibidor de la muerte de las neuronas para uso según la reivindicación 5, en el que el agente profiláctico y/o terapéutico para una enfermedad demencial es un inhibidor de la evolución de una enfermedad demencial.
- 25 7. El inhibidor de la muerte de las neuronas para uso según la reivindicación 5 ó 6, en el que la enfermedad demencial es demencia vascular o demencia degenerativa.
- 30 8. El inhibidor de la muerte de las neuronas para uso según la reivindicación 7, en el que la demencia degenerativa es demencia de tipo Alzheimer.
9. El inhibidor de la muerte de las neuronas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso como agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral.
10. El inhibidor de la muerte de las neuronas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso según la reivindicación 9, en el que el agente profiláctico y/o terapéutico para infarto cerebral es un agente profiláctico contra la reaparición de infarto cerebral.

[FIG 1]

Número de neuronas  
(células/mm)



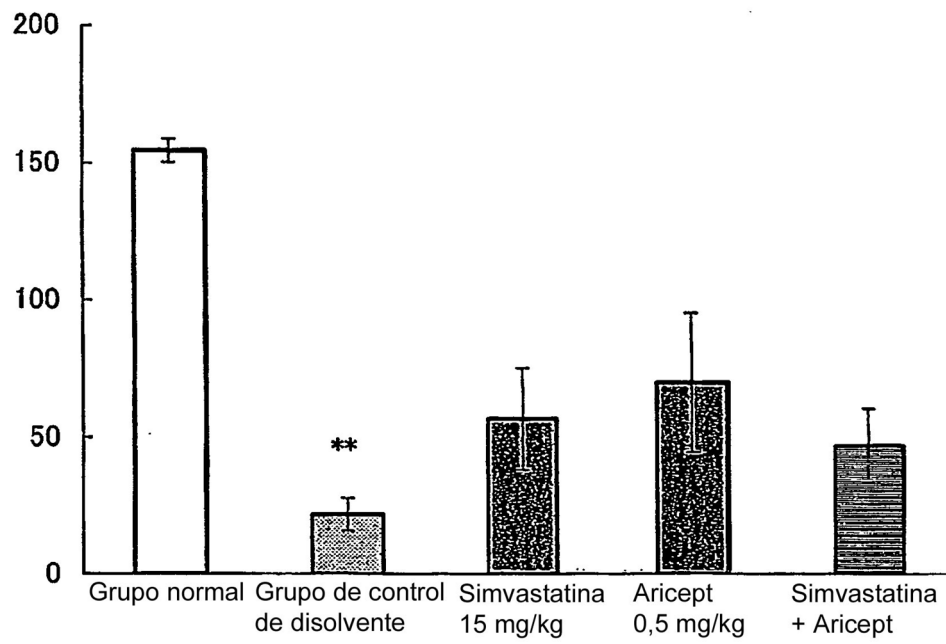
Valor promedio  $\pm$  error estándar n = 6,

##:  $p < 0,01$  Existe una diferencia significativa con respecto al grupo normal (ensayo de la t de Student)

\*:  $p < 0,05$  Existe una diferencia significativa con respecto al grupo de control de disolvente (ensayo de Dunnett)

[FIG 2]

Número de neuronas  
(células/mm)



Valor promedio  $\pm$  error estándar n= 6-9,

\*\* :  $p < 0,01$  Existe una diferencia significativa con respecto al grupo normal (ensayo de la t de Student)