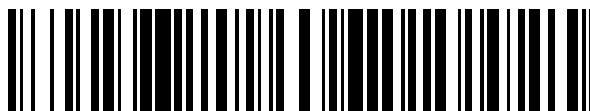


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 665 569**

51 Int. Cl.:

A61K 31/138 (2006.01)

A61K 31/137 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.03.2012 PCT/EP2012/053568**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.09.2012 WO12117075**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.03.2012 E 12706270 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.02.2018 EP 2680835**

54 Título: **Tratamiento de la isquemia cerebral**

30 Prioridad:

01.03.2011 EP 11305217

29.03.2011 US 201161468658 P

06.06.2011 EP 11305687

06.06.2011 US 201161493606 P

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

26.04.2018

73 Titular/es:

PHARNEXT (100.0%)

11 Rue des Peupliers

92130 Issy-les-Moulineaux, FR

72 Inventor/es:

COHEN, DANIEL;

CHUMAKOV, ILYA;

NABIROCHKIN, SERGUEI;

VIAL, EMMANUEL y

GUEDJ, MICKAËL

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 665 569 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

Tratamiento de la isquemia cerebral

Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de la medicina. Proporciona nuevas composiciones para tratar o proteger de la isquemia o de la hipoxia cerebral a individuos que lo necesiten. La invención se refiere también a nuevas composiciones para tratar el ictus. Más específicamente, la invención se refiere a nuevas combinaciones de fármacos para uso en la protección de las células neuronales de la muerte celular inducida por isquemia o por hipoxia. Las composiciones de la invención se pueden usar para tratar lesiones cerebrales isquémicas o hipóxicas en cualquier sujeto mamífero.

Antecedentes de la invención

La isquemia es una condición en la que hay un flujo insuficiente de sangre a una parte dada del cuerpo para satisfacer la demanda metabólica. Esta escasez de oxígeno, glucosa y otros nutrientes conduce a un daño tisular en la zona isquémica. Puede afectar a un órgano completo, a una extremidad o sólo a una parte de tejido, dependiendo del sistema vascular implicado. Hay varios tipos de isquemia con mecanismos específicos, dependiendo de la zona que experimenta el ataque isquémico, pero todos ellos comparten procesos generales responsables de tal ataque con consecuencias globales comunes.

Muchos sucesos pueden conducir a un suministro de sangre insuficiente para un tejido dado: aterosclerosis, tromboembolia, hipoglucemia, taquicardia, hipotensión, compresión externa de un vaso sanguíneo (por ejemplo, por un tumor o después de un traumatismo), embolia, enfermedad de células falciformes, frío extremo localizado, aplicación de torniquete, malformaciones arteriovenosas, enfermedad oclusiva de arterias periféricas, hemorragia.

Una consecuencia importante de la isquemia es la falta de oxígeno suministrado normalmente a través de la unión a la hemoglobina en los glóbulos rojos. El tejido afectado rápidamente se vuelve hipóxico si no anóxico. Esto, sumado a la falta de glucosa, el suministro de energía, conduce a la liberación de enzimas proteolíticas, especies reactivas de oxígeno y mediadores inflamatorios. Esta llamada cascada isquémica causará finalmente muerte celular y daño tisular. La isquemia se puede desarrollar por lo tanto en cualquier parte del cuerpo, tal como las extremidades, el intestino, el corazón o el cerebro. El corazón y el cerebro se encuentran entre los órganos que son más rápidamente dañados por la isquemia: la necrosis se vuelve irreversible después de sólo aproximadamente 3-4 minutos desde el inicio.

La isquemia cerebral es la isquemia de los tejidos cerebrales que tiene como resultado la pérdida de células cerebrales. A diferencia de otros tejidos que pueden sobrevivir períodos prolongados de hipoxia, el tejido cerebral es particularmente sensible a la privación de oxígeno o de energía. El daño permanente a las neuronas puede ocurrir incluso durante períodos muy breves de hipoxia o de isquemia. En la actualidad, no existe ninguna estrategia neuroprotectora efectiva para el tratamiento de la isquemia o de la hipoxia cerebral. La enfermedad cerebrovascular es la tercera causa de muertes en el mundo (OMS 2008), siendo responsable del 10,8 % de las muertes en todo el mundo. Además, es una de las primeras causas de discapacidad a largo plazo en los países occidentales, quedando más del 50 % de los pacientes con una discapacidad motora y una pérdida significativa de años de vida ajustados por calidad (QALY). Al aumentar el riesgo de isquemia cerebral con la edad, la carga de la isquemia cerebral es cada vez mayor a medida que la población envejece. La mejora de la asistencia sanitaria mediante el desarrollo de una terapia rápida y más eficaz tendría, por lo tanto, un impacto médico y socioeconómico importante en todo el mundo y es muy necesaria.

Los síntomas de la isquemia cerebral y su gravedad varían mucho dependiendo de la región o regiones cerebrales afectadas. Por ejemplo, estos síntomas pueden incluir debilidad en un lado completo del cuerpo, disfunciones en el habla o en la visión y/o confusión mental. La isquemia cerebral focal, que se produce cuando un coágulo de sangre ha ocluido un vaso cerebral y está confinada a una región específica del cerebro, generalmente es causada por trombosis o embolia. La isquemia cerebral global, que se produce cuando el flujo sanguíneo a todo el cerebro se para o se reduce drásticamente, es causada comúnmente por una enfermedad cardiovascular. La zona o zonas de tejido cerebral afectadas, así como el retraso en el diagnóstico y en el tratamiento son factores esenciales que determinan el resultado de una isquemia cerebral, es decir, la supervivencia y los niveles de discapacidad después de la recuperación.

Una consecuencia importante de la isquemia cerebral es el daño neuronal, que está mediado por la cascada isquémica que produce el daño tisular que conduce a la muerte neuronal posterior y a la ruptura de la barrera hematoencefálica. Se estima que 2 millones de células cerebrales mueren cada minuto después del inicio del ictus isquémico. Además, la restauración del flujo sanguíneo después de un período de isquemia en realidad puede causar más daño que la propia isquemia. La llamada lesión por reperfusión puede producir la aceleración de la muerte neuronal.

No existe actualmente ninguna terapia farmacológica eficaz para ayudar a los pacientes durante la fase aguda de la isquemia cerebral, excepto la trombolisis y los nuevos dispositivos o técnicas endovasculares de los que solo se

beneficiará un número limitado de pacientes. Esto es debido a un problema importante: un margen terapéutico muy estrecho de menos de 6 horas desde el inicio de la isquemia. Otro problema importante es el carácter invasivo y la complejidad de estos procedimientos.

5 Actualmente se contemplan nuevas terapias que se dirigen a (i) regenerar las zonas dañadas del cerebro para recuperar la función neurológica y (ii) dirigirse a la cascada isquémica para minimizar e incluso evitar el daño cerebral. Desafortunadamente, hasta ahora, estas nuevas terapias han sido efectivas en el marco experimental, pero han fallado en el paso a la práctica clínica.

10 Una estrategia fue analizar la recuperación de la función neuronal sobre retinas de conejo *in vitro* en condición isquémica mediante la aplicación de diferentes tratamientos tales como hipotermia, un cóctel de seis fármacos que se sabe que inhiben el metabolismo neuronal, o la combinación de magnesio/mexiletina (1). La estimulación de la neurogénesis utilizando mecanismos de reparación endógenos, tales como las células progenitoras neuronales o el trasplante de células madre, se está investigando activamente. Desafortunadamente, cuestiones tales como la supervivencia de las células, la diferenciación apropiada y la conectividad apropiada de las nuevas células neuronales permanecen sin resolver hasta ahora (2).

15 Se han ensayado *in vivo*, enzimas antioxidantes, principalmente la superóxido-dismutasa (SOD), en asociación con la catalasa y la glutatión-peroxidasa, pero no demostraron ninguna mejoría en el flujo sanguíneo cerebral ni en la recuperación neurológica (3).

20 En la actualidad se están investigando enfoques terapéuticos más recientes para el ictus isquémico con diferentes modos de acción y un margen terapéutico más amplio: antagonistas de glutamato, agentes antiinflamatorios, agentes antiapoptóticos y moduladores de canales iónicos.

25 El glutamato es el neurotransmisor excitador más abundante en el sistema nervioso de los mamíferos. Activa los receptores de glutamato que se clasifican en tres clases ionotrópicas (receptores NMDA, AMPA y kainato) y tres clases metabotrópicas. En condiciones normales, la concentración de glutamato se mantiene mediante los sistemas gliales y neuronales. Durante la isquemia, se observa en el cerebro una concentración anormalmente alta de glutamato extracelular. La acumulación excesiva de glutamato en la hendidura sináptica conduce a la sobreactivación de los receptores de glutamato que da lugar a procesos patológicos y finalmente a la muerte de las células neuronales. Este proceso, denominado excitotoxicidad, se observa comúnmente en los tejidos neuronales en condiciones isquémicas. A partir de la sobreactivación de los receptores de glutamato, sigue una acumulación en células postsinápticas de varias especies de iones, especialmente calcio (29). La sobrecarga de calcio es un proceso clave de la excitotoxicidad. Da lugar a procesos celulares nocivos, especialmente cuando estructuras específicas tales como las mitocondrias o el retículo endoplásmico ya no son capaces de secuestrar el calcio citoplásmico. La sobrecarga excesiva de calcio en las mitocondrias se asocia con una mayor generación de especies reactivas de oxígeno, así como con la liberación de proteínas mitocondriales proapoptóticas que son ambas perjudiciales (29, 30). La entrada de calcio transitoria o sostenida en las células también activa una serie de enzimas perjudiciales, incluidas la óxido nítrico sintasa, las fosfolipasas, las endonucleasas y las proteasas, tales como las caspasas y la calpaína (31).

35 Se han ensayado varios antagonistas de los receptores de glutamato para contrarrestar la excitotoxicidad. Sin embargo, los efectos de los antagonistas de los receptores de glutamato, tales como los antagonistas de los receptores NMDA selfotel, eliprodilo y aptiganel (Cerestat), no se pudieron validar en estudios clínicos y se han suspendido varios estudios (4). La dizolcipina (MK801), otro antagonista del receptor NMDA, se asocia con numerosos efectos secundarios. Los bloqueadores de los canales de calcio tales como nimodipino y flunarizina tampoco mostraron ningún beneficio significativo frente al placebo en ensayos clínicos (5). Está en curso un ensayo clínico de fase III con el antagonista del receptor AMPA YM872 (zonampanel) y busca determinar su eficacia potencial en combinación con la trombolisis con tPA.

45 Se ha demostrado que una variedad de fármacos antiinflamatorios reducen el daño isquémico en estudios en animales. Los agentes antiinflamatorios comúnmente usados son la aspirina y las estatinas hipolipemiantes. Además, se estudiaron dos inhibidores de la adhesión de leucocitos, enlimomab y leukarrest, en pacientes con ictus isquémico, pero los efectos secundarios parecían ser mayores que sus efectos terapéuticos (5).

50 Los moduladores de canales iónicos (es decir, nimodipino, fosfenitoína, maxipost) fallaron en la fase III debido a la falta de beneficio demostrado (7).

Los agentes antiapoptóticos, tales como los inhibidores de la caspasa, han demostrado que reducen la zona de daño isquémico en los modelos de ictus en roedores (8). Sin embargo, un estudio reciente con eritropoyetina arrojó efectos negativos y planteó preocupaciones de seguridad con un mayor riesgo de muerte y sucesos cerebrovasculares adicionales (9).

55 Debido al impacto social de la isquemia cerebral mencionado antes, todavía existe la necesidad de fármacos eficaces para proteger las células neuronales durante un suceso isquémico o hipóxico, después de su aparición, o de manera preventiva en un paciente en riesgo.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona nuevas composiciones para tratar la isquemia y la hipoxia cerebral. Más específicamente, la presente invención se basa en el descubrimiento de combinaciones de fármacos específicos que proporcionan un notable efecto neuroprotector contra la isquemia o la hipoxia y que, por lo tanto, representan nuevos tratamientos para tales afecciones.

La invención describe así nuevas terapias para el tratamiento de lesiones cerebrales isquémicas o hipóxicas causadas por diversas condiciones patológicas que dan lugar a un flujo sanguíneo reducido o un contenido reducido de oxígeno.

El objeto de esta invención se refiere a una composición como se define en las reivindicaciones. Más específicamente, esta invención se refiere a composiciones que comprenden (i) mexiletina, o uno de sus metabolitos seleccionado de 6-hidroximetilmexiletina, 4-hidroximexiletina, 3-hidroximexiletina (MHM) y N-hidroximexiletina glucurónico; y (ii) cinacalcet, o su metabolito ácido hidrocínámico, o cualquiera de sus sales, enantiómeros, o racematos farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento preventivo o curativo de una lesión cerebral isquémica o cerebral hipóxica en un sujeto.

El tratamiento puede ser preventivo, particularmente en sujetos en riesgo, o curativo, y se puede usar para tratar lesiones isquémicas focales o globales, así como lesiones hipóxicas, de diferentes orígenes. Es particularmente adecuado para tratar la isquemia o la hipoxia en sujetos que padecen, han padecido o son susceptibles de padecer, por ejemplo, ictus, ictus isquémico agudo, ataque isquémico transitorio, ictus hemorrágico agudo, traumatismo craneoencefálico, hemorragias cerebrales, paro cardíaco, edema cerebral, hidrocefalia, asfisia, trombosis, embolia, tromboembolia, aterosclerosis, hipotensión severa prolongada, hipoxia intrauterina, hipoxia del nacimiento, complicaciones de la cirugía cardíaca o complicaciones neuroquirúrgicas.

La invención divulga composiciones como se han descrito antes, para uso para reducir, prevenir o retardar el daño neuronal o la muerte de células neuronales inducidos por isquemia o hipoxia.

La presente invención divulga también composiciones como se han descrito antes, para uso para proteger a un sujeto de la isquemia o hipoxia cerebral.

La presente invención divulga también composiciones como se han descrito antes, para uso en el tratamiento curativo o preventivo de ictus en un sujeto.

La invención divulga también composiciones como se han descrito antes, para uso para reducir, prevenir o retardar el daño neuronal o la muerte de células neuronales inducidos por ictus.

Además, se describen también en la presente memoria composiciones farmacéuticas *per se* que comprenden al menos una combinación de fármacos como se ha descrito anteriormente. Las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden típicamente uno o varios excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables. Como se describirá adicionalmente en la presente solicitud, los compuestos de una terapia combinatoria según la invención se pueden formular o administrar al sujeto juntos, por separado o secuencialmente, posiblemente a través de diferentes vías y protocolos. En una realización preferida, las composiciones de la invención se administran repetidamente al sujeto.

La invención describe además composiciones para uso en el tratamiento de la isquemia o hipoxia cerebral en un sujeto que lo necesite, comprendiendo administrar simultáneamente, por separado o secuencialmente a dicho sujeto una combinación de fármacos o una composición como se ha descrito anteriormente.

La presente invención describe también composiciones para uso en el tratamiento del ictus en un sujeto que lo necesite, comprendiendo administrar simultáneamente, por separado o secuencialmente a dicho sujeto una combinación de fármacos o una composición como se ha descrito anteriormente.

También se describe en la presente memoria el uso de las combinaciones de fármacos o composiciones descritas anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la isquemia o la hipoxia cerebral.

La solicitud describe también el uso de las combinaciones de fármacos o composiciones descritas anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del ictus.

El tratamiento según la invención se puede usar solo o en combinación o en alternancia con otras terapias de dichas afecciones. La invención es aplicable a cualquier sujeto mamífero, particularmente los seres humanos.

Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1, 3 y 5 no forman parte de la presente invención.

Figura 1: Efecto protector de la combinación descrita de baclofeno y acamprosato frente a la lesión isquémica. Aunque no se obtiene ninguna protección significativa cuando se usan solos baclofeno (80 nM) o acamprosato (0,32

nM), se observa una protección significativa (*) para la combinación de los dos fármacos, en las mismas concentraciones.

Figura 2: Efecto protector de la combinación reivindicada de cinacalcet y mexiletina frente a la lesión isquémica. No se observa ninguna protección significativa cuando se usan cinacalcet (64 pM) o mexiletina (25.6 pM) solos, mientras que sí se observa una protección significativa (*) para la combinación de los dos fármacos, en las mismas concentraciones.

Figura 3: Efecto protector de la combinación descrita de torasemida y sulfisoxazol frente a la lesión isquémica. La combinación de sulfisoxazol (1,36 nM) y torasemida (80 nM) induce una protección significativa (*), 110 % más alta que la protección obtenida utilizando torasemida sola, mientras que no se obtiene ninguna protección cuando se usa sulfisoxazol solo.

Figura 4: Efecto de la terapia con la combinación reivindicada de cinacalcet y mexiletina frente a la toxicidad del glutamato sobre las células corticales neuronales. La intoxicación por glutamato se evita significativamente con la combinación de cinacalcet (64 pM) y mexiletina (25,6 pM) mientras que, a esas concentraciones, el cinacalcet y la mexiletina solos no tienen ningún efecto significativo sobre la intoxicación. *: $p < 0,001$, significativamente diferente de la intoxicación por glutamato; (test ANOVA + Dunnett Post-Hoc).

Figura 5: Efecto de la terapia con la combinación descrita de sulfisoxazol y torasemida frente a la toxicidad del glutamato sobre las células corticales neuronales. La intoxicación por glutamato se evita significativamente con la combinación de sulfisoxazol (6,8 nM) y torasemida (400 nM) mientras que, a esas concentraciones, el sulfisoxazol y la torasemida solos no tienen ningún efecto significativo sobre la intoxicación. *: $p < 0,001$, significativamente diferente de la intoxicación por glutamato; (test ANOVA + Dunnett Post-Hoc).

Descripción detallada de la invención

La presente invención describe nuevos enfoques terapéuticos para tratar las lesiones cerebrales isquémicas o hipóxicas. La invención describe combinaciones específicas de fármacos y métodos que permiten la protección eficaz de las células neuronales frente a la isquemia o la hipoxia. Un objeto de la invención se refiere a una composición que comprende mexiletina y cinacalcet, o sus metabolitos, sales, enantiómeros o racematos, como se define en las reivindicaciones, para uso en el tratamiento preventivo o curativo de una lesión cerebral isquémica o hipóxica, en un sujeto.

Dentro del contexto de la presente invención, los términos "isquemia" o "lesión isquémica" cerebral se refieren a una afección que se produce en sujetos que tienen suministro insuficiente de sangre al cerebro o a una región del cerebro. Más específicamente, el término isquemia o lesión isquémica se refiere a cualquier estado patológico del cerebro o de una región de este, en el que el flujo sanguíneo cerebral es insuficiente para satisfacer las demandas metabólicas del tejido cerebral, dando como resultado el daño de todo el cerebro o de amplias zonas del cerebro (isquemia global) o de una región específica del cerebro (isquemia focal).

Los términos "hipoxia" o "lesión hipóxica" cerebral se refieren a una afección que se produce en los sujetos que tienen suministro reducido de oxígeno al cerebro o a una región del cerebro. La hipoxia puede ser el resultado de sucesos isquémicos. Sin embargo, la hipoxia también se puede producir sin isquemia, cuando el contenido de oxígeno en los vasos sanguíneos disminuye sin disminución del flujo sanguíneo. La hipoxia según la invención comprende también anoxia que es una privación completa de suministro de oxígeno al tejido.

Los términos "lesión isquémica cerebral" o "lesión hipóxica cerebral" incluyen por lo tanto particularmente una lesión cerebral en la que las células neuronales están dañadas o sujetas a muerte celular como resultado de un flujo sanguíneo reducido (isquemia) o como resultado de un contenido de oxígeno reducido (hipoxia).

La isquemia y la hipoxia pueden ocurrir en sujetos en diferentes situaciones, tales como, por ejemplo, en condiciones de ictus, ictus isquémico agudo, ataque isquémico transitorio, ictus hemorrágico agudo, traumatismo craneoencefálico, hemorragias cerebrales, paro cardíaco, edema cerebral, hidrocefalia, asfixia, condiciones vasooclusivas, embolia, trombosis, tromboembolia, aterosclerosis, hipotensión severa prolongada, hipoxia intrauterina, hipoxia del nacimiento, complicaciones de la cirugía cardíaca o complicaciones neuroquirúrgicas.

Como se usa en la presente memoria, el término "tratamiento" incluye el tratamiento curativo o el tratamiento preventivo de lesiones cerebrales isquémicas o hipóxicas.

Se usa un tratamiento curativo una vez que una isquemia o hipoxia es inducida en un sujeto. El tratamiento se usa entonces normalmente para reducir el daño neuronal o la muerte de células neuronales en los sujetos que padecen isquemia o hipoxia. El tratamiento curativo incluye también la mejora de la salud y la recuperación de pacientes que han sufrido condiciones patológicas que producen un flujo sanguíneo reducido o un contenido reducido de oxígeno, como se ha descrito antes, limitando la muerte de las células neuronales y el daño cerebral en estos sujetos. El tratamiento curativo incluye también la disminución de las lesiones isquémicas secundarias, tales como las lesiones por reperfusión. Un tratamiento curativo agudo se inicia preferiblemente tan pronto como sea posible tras la detección de isquemia o hipoxia, más preferiblemente en unas horas.

El tratamiento preventivo se puede usar en los sujetos en riesgo de sufrir isquemia o hipoxia cerebral, con el fin de prevenir, disminuir o retardar los ataques neurológicos causados por la isquemia o la hipoxia. El tratamiento preventivo incluye una protección de las células neuronales frente al daño o la muerte en condiciones de privación de glucosa y oxígeno, así como en condiciones de excitotoxicidad por glutamato. Los sujetos en riesgo incluyen los sujetos susceptibles de padecer, o que han padecido ya ictus, ictus isquémico agudo, ataque isquémico transitorio, ictus hemorrágico agudo, traumatismo craneoencefálico, hemorragias cerebrales, paro cardíaco, edema cerebral, hidrocefalia, asfixia, condiciones vasooclusivas, embolia, tromboembolia, aterosclerosis, hipotensión severa prolongada. Es bien sabido que los pacientes que han padecido muchas de las afecciones anteriores tienen más probabilidades de recaída. En consecuencia, el efecto protector documentado en esta memoria de las combinaciones de compuestos de la invención se puede usar como una terapia preventiva eficaz en tales pacientes en riesgo. Los sujetos en riesgo también son los sujetos que se someten o que se someterán a cirugía cardíaca o neurocirugía. Además, la terapia preventiva de la invención se puede usar también para otros pacientes con un factor de riesgo elevado para desarrollar isquemia o hipoxia cerebral, en relación con la hipertensión, el tabaquismo, la inactividad física, la obesidad, las enfermedades cardiovasculares, los niveles elevados de colesterol total y la fibrilación auricular. Las mujeres embarazadas tienen también un mayor riesgo durante el embarazo y el período de posparto si desarrollan afecciones cardiovasculares tales como la preeclampsia.

El término "combinación" designa un tratamiento en el que al menos dos fármacos son coadministrados a un sujeto para causar un efecto biológico. En una terapia o composición combinada según esta invención, los al menos dos fármacos se pueden administrar juntos o por separado, al mismo tiempo o secuencialmente. Además, los al menos dos fármacos se pueden administrar a través de diferentes vías y protocolos. Como resultado, aunque se pueden formular juntos, los fármacos de una combinación también se pueden formular por separado.

El término "sal" se refiere a una sal de adición de ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable y relativamente no tóxico de un compuesto de la presente invención. La formación de una sal farmacéutica consiste típicamente en emparejar una molécula de fármaco ácida, básica o zwitteriónica con un contraión para crear una versión salina del fármaco. Se puede usar una amplia variedad de especies químicas en la reacción de neutralización. Aunque la mayoría de las sales de un principio activo dado son bioequivalentes, algunas pueden tener, entre otras, propiedades de solubilidad o biodisponibilidad incrementadas. La selección de una sal es ahora una operación estándar común en el proceso de desarrollo de fármacos como lo enseñan H. Stahl y C.G Wermuth en su manual (25). Las sales farmacéuticamente aceptables de la invención incluyen por lo tanto las obtenidas haciendo reaccionar el compuesto principal, que funciona como una base, con un ácido inorgánico u orgánico para formar una sal, por ejemplo, sales de ácido acético, ácido nítrico, ácido tartárico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido succínico o ácido cítrico. Las sales farmacéuticamente aceptables de la invención incluyen también aquellas en las que el compuesto principal funciona como un ácido y se hace reaccionar con una base apropiada para formar, por ejemplo, sales de sodio, de potasio, de calcio, de magnesio, de amonio o de colina.

El término "profármaco" como se describe en la presente memoria se refiere a cualquier derivado (o precursor) de un compuesto que, cuando se administra a un sistema biológico (por ejemplo, un organismo humano), genera dicho compuesto como resultado, por ejemplo, de una reacción o reacciones químicas espontáneas, reacción o reacciones químicas catalizadas por enzimas y/o reacción o reacciones químicas metabólicas. Los profármacos normalmente son inactivos o menos activos que el fármaco resultante y se pueden usar, por ejemplo, para mejorar las propiedades fisicoquímicas del fármaco, para dirigir el fármaco a un tejido específico, para mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas del fármaco y/o para reducir los efectos secundarios indeseables. La guía técnica específica para la selección de profármacos adecuados es de conocimiento común general (10-14). Además, la preparación de profármacos se puede realizar por métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica. Los métodos que se pueden usar para sintetizar profármacos están descritos en numerosas revisiones sobre el tema (13; 15-21). Por ejemplo, el arbaclofeno placarbilo figura en la base de datos ChemID plus Advance y el arbaclofeno placarbilo es un profármaco bien conocido de baclofeno (22).

El término "metabolito" de un fármaco como se usa en la presente memoria se refiere a una molécula que resulta de la modificación o modificaciones bioquímicas o de la transformación de dicho fármaco después de la administración a un organismo, normalmente a través de sistemas enzimáticos especializados y que presenta o conserva una actividad biológica del fármaco. Se ha descubierto que los metabolitos son responsables de gran parte de la acción terapéutica del fármaco original. En una realización específica, un "metabolito" como se usa en la presente memoria designa un fármaco modificado o procesado que retiene al menos parte de la actividad del fármaco original, preferiblemente que tiene una actividad protectora frente a la muerte de células neuronales inducida por isquemia o por hipoxia. Los ejemplos de metabolitos incluyen las formas hidroxiladas de torasemida que resultan del metabolismo hepático del fármaco (base de datos del banco de fármacos (26)).

El término "derivado" de un compuesto incluye cualquier molécula que está relacionada funcional y/o estructuralmente con dicho compuesto, tal como un ácido, amida, éster, éter, variante acetilada, variante hidroxilada, o una variante alquilada (C1-C6) de dicho compuesto. El término derivado incluye también un compuesto estructuralmente relacionado que ha perdido uno o más sustituyentes listados anteriormente. Por ejemplo, la homotaurina es un derivado desacetilado del acamprosato. Los derivados preferidos de un compuesto son moléculas que tienen un grado sustancial de similitud con dicho compuesto, como se determina por métodos

conocidos. Se pueden encontrar compuestos similares junto con su índice de similitud con una molécula original en numerosas bases de datos, tales como PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/>) o DrugBank (<http://www.drugbank.ca/>). Los derivados deben tener un índice de similitud de Tanimoto mayor que 0,4, preferiblemente mayor que 0,5, más preferiblemente mayor que 0,6, aún más preferiblemente mayor que 0,7 con un fármaco original. El índice de similitud de Tanimoto se usa ampliamente para medir el grado de similitud estructural entre dos moléculas. El índice de similitud de Tanimoto se puede calcular mediante un software tal como el Small Molecule Subgraph Detector (32-33) disponible en la red (<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/SMSD/>). Los derivados preferidos deben estar relacionados tanto estructuralmente como funcionalmente con un compuesto original, es decir, deben retener también al menos parte de la actividad del fármaco original, más preferiblemente deben tener una actividad protectora frente a la muerte de células neuronales inducida por isquemia o hipoxia.

Se describen también formulaciones de liberación sostenida de los compuestos.

Como se ha expuesto antes, la invención describe combinaciones particulares de fármacos que permiten una protección eficaz de las células neuronales contra la isquemia o la hipoxia en individuos que lo necesiten. Por ejemplo, la invención describe composiciones que comprenden mexiletina y cinacalcet, que proporcionan una protección importante de las células neuronales frente a la isquemia o la hipoxia.

La tabla 1 que sigue proporciona el número de CAS para cada uno de estos compuestos, así como una lista no limitativa de ejemplos de sales, racematos, profármacos, metabolitos o derivados para estos compuestos descritos.

Tabla 1

Fármaco	Números CAS	Clase o índice de similitud de Tanimoto
Acamprosato y compuestos relacionados		
Acamprosato	77337-76-9; 77337-73-6	
Homotaurina	3687-18-1	0,73
Propanosulfonato de etil dimetil amonio	/	0,77
Taurina	107-35-7	0,5
Baclofeno y compuestos relacionados		
Baclofeno	1134-47-0; 66514-99-6; 69308-37-8; 70206-22-3; 63701-56-4; 63701-55-3	
Ácido 3-(p-clorofenil)-4-hidroxibutírico	/	Metabolito
Arbaclofeno placarbilo	847353-30-4	Profármaco
Mexiletina y compuestos relacionados		
Mexiletina	31828-71-4; 5370-01-4	
6-Hidroximetilmexiletina	53566-98-6	Metabolito
4-Hidroximexiletina	53566-99-7	Metabolito
3-Hidroximexiletina (MHM)	129417-37-4	Metabolito
N-Hidroximexiletina glucurónido	151636-18-9	Metabolito
Sulfisoxazol y compuestos relacionados		
Sulfisoxazol	127-69-5; 4299-60-9	
N(4)-Acetilsulfisoxazol	4206-74-0	Metabolito
Acetilsulfisoxazol	80-74-0	Profármaco
Sulfametoxazol	723-46-6	0,52
Cinacalcet y compuestos relacionados		
Cinacalcet	226256-56-0; 364782-34-3	
Ácido hidrocínámico	501-52-0	Metabolito
Torasemida y compuestos relacionados		
Torasemida	56211-40-6; 72810-59-4	
Hidroxitorasemida	99300-68-2; 99300-67-1	Metabolitos
Carboxitorasemida	/	Metabolito
Tolbutamida	64-77-7	0,55

Ejemplos específicos de profármacos de baclofeno se dan en Hanafi *et al.* (2011) (27) que han demostrado que los ésteres de baclofeno y carbamatos de ésteres de baclofeno son de especial interés para ser dirigidos al sistema nervioso central. El baclofeno placarbilo como se ha mencionado antes es también un profármaco bien conocido y, por lo tanto, se puede usar en lugar de baclofeno. Otros profármacos de baclofeno se pueden encontrar en las siguientes solicitudes de patentes: WO2010102071, US2009197958, WO2009096985, WO2009061934, WO2008086492, US2009216037, WO2005066122, US2011021571, WO2003077902, WO2010120370.

Los profármacos de acamprosato útiles tales como éster de ácido pantoico ésteres de neopentil sulfonilo, profármacos de ésteres de neopentil sulfonilo o profármacos de acamprosato de éster de neopentil sulfonilo con carboxilato enmascarado se enumeran especialmente en los documentos WO2009033069, WO2009033061, WO2009033054, WO2009052191, WO2009033079, US 2009/0099253, US 2009/0069419, US 2009/0082464, US 2009/0082440 y US 2009/0076147. Como se describe en los ejemplos, los inventores han encontrado que los tratamientos de combinación que comprenden al menos:

- mexiletina y cinacalcet,

tienen un fuerte efecto protector sobre las células neuronales en condiciones de privación de glucosa y oxígeno en un modelo de isquemia/hipoxia. Los resultados muestran además que estos tratamientos de combinación también protegen eficazmente a las neuronas contra la toxicidad del glutamato. Los resultados muestran un efecto sinérgico inesperado de los fármacos combinados.

La presente invención describe por lo tanto un nuevo tratamiento de la isquemia o la hipoxia, en particular un nuevo tratamiento para proteger las células neuronales de la isquemia o la hipoxia, con una composición que comprende:

- mexiletina y cinacalcet.

La invención describe también el uso de la combinación anterior de fármacos, o sus sales, enantiómeros, racematos, o metabolitos farmacéuticamente aceptables, para proteger a las células neuronales de la isquemia o de la hipoxia en un sujeto que lo necesite.

La invención describe también el uso de la combinación anterior mencionada de fármacos, o sus sales, enantiómeros, racematos, o metabolitos farmacéuticamente aceptables, para prevenir, disminuir o retardar la muerte de células neuronales en un sujeto que tiene una isquemia o hipoxia cerebral.

Esta invención describe además el uso de la combinación anterior de fármacos, o sus sales, enantiómeros, racematos, o metabolitos farmacéuticamente aceptables, para proteger de la muerte a las células neuronales en un sujeto con riesgo de tener isquemia o hipoxia cerebral. Como se ha expuesto anteriormente, los sujetos en riesgo incluyen sujetos que han sufrido antes una isquemia o hipoxia cerebral, así como sujetos que sufren o son susceptibles de sufrir una afección o enfermedad que puede llevar a isquemia o hipoxia cerebral.

La invención es particularmente adecuada para tratar la isquemia o la hipoxia cerebral en un sujeto que padece, ha padecido o tiene riesgo de padecer ictus, shock, ataque isquémico transitorio, edema cerebral, hemorragias cerebrales, hidrocefalia, traumatismo, hipoxia intrauterina o del nacimiento, embolia, aterosclerosis, infarto de miocardio.

Se describe también que los tratamientos de combinación de la invención son eficaces y adecuados para proteger las células neuronales de la isquemia o de la hipoxia en un sujeto sometido a cirugía cardíaca o neurocirugía. El tratamiento se puede aplicar antes, durante y/o después de la cirugía.

La invención describe el uso de una de las combinaciones de fármacos anteriores para tratar la isquemia o hipoxia cerebral, más particularmente para proteger las células neuronales en un individuo que ha padecido, padece o tiene riesgo de padecer ictus.

Es bien sabido que los ataques isquémicos transitorios (TIA) son un presagio para el posible desarrollo de ictus isquémico, teniendo lugar la mitad de los ictus antes de los 2 primeros días y con un riesgo de ictus antes de los 90 días de más de 50 veces el riesgo normal.

Se describe además el uso de una de las combinaciones anteriores para tratar la isquemia o hipoxia cerebral, más particularmente para proteger las células neuronales de la isquemia o hipoxia en un individuo que ha sufrido un ataque isquémico transitorio. La invención describe también el uso de las combinaciones anteriores junto con otros fármacos o dispositivos que tienen como objetivo restaurar el suministro de sangre o de oxígeno del cerebro.

La invención describe también el uso de una de las combinaciones anteriores para tratar la isquemia o hipoxia cerebral, más particularmente para proteger las células neuronales de la lesión por reperusión en un individuo que lo necesite.

Se describen también las combinaciones anteriores de fármacos para uso en la fabricación de un medicamento para tratar la isquemia o la hipoxia cerebral, más particularmente para proteger las células neuronales de la isquemia o de la hipoxia, en un sujeto.

En la presente memoria, se describe también el uso de cualquiera de estas composiciones en la fabricación de un medicamento para prevenir, disminuir o retardar la muerte neuronal resultante de una afección o enfermedad isquémica o hipóxica. Además, la solicitud describe el uso de cualquiera de estas composiciones en la fabricación de un medicamento para prevenir, disminuir o retardar la muerte de las células neuronales en sujetos que padecen o

5 tienen riesgo de padecer ictus.

Como se ha indicado previamente, en una terapia de combinación de esta invención, los compuestos o fármacos se pueden formular juntos o por separado, y se pueden administrar juntos, por separado o secuencialmente.

Para uso en la presente invención, los fármacos o compuestos se mezclan usualmente con excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

10 Como se ejemplifica, las combinaciones de compuestos descritos en la presente memoria protegen fuertemente las células neuronales de la privación de oxígeno y de glucosa, así como frente a la toxicidad del glutamato. El tratamiento de combinación es eficaz a dosis bajas, a las que los compuestos solos no tienen ningún efecto sustancial. Por lo tanto, la invención proporciona un tratamiento eficaz, con riesgos reducidos de efectos secundarios, especialmente durante un tratamiento a largo plazo.

15 Se describe también un método para preparar una composición farmacéutica, comprendiendo el método mezclar una cantidad apropiada de los compuestos anteriores en un excipiente o vehículo apropiado.

Las composiciones y métodos descritos en la invención son muy eficaces y se pueden usar solos, sin ningún otro agente activo ni tratamiento. Alternativamente, aunque muy eficaces, dependiendo del sujeto o afección específica, las combinaciones o composiciones descritas en la invención pueden comprender compuestos activos adicionales y/o se pueden usar conjuntamente o en asociación o combinación con fármacos o tratamientos adicionales. Otras

20 terapias adicionales usadas en conjunción con la combinación o combinaciones de fármaco o fármacos descritas en la presente invención pueden comprender uno o más fármacos o dispositivos vasculares usados actualmente para reperfundir las zonas isquémicas o hipóxicas, o fármacos que pretenden evitar los daños neuronales o incluso uno o más fármacos actualmente evaluados en el marco de ensayos clínicos.

25 La terapia según la invención se puede proporcionar en el hogar, en el consultorio del médico, en una clínica, en el departamento ambulatorio de un hospital o en un hospital, para que el médico pueda observar de cerca los efectos de la terapia y pueda hacer los ajustes que sean necesarios.

La duración de la terapia depende de la fase de la enfermedad que se está tratando, de la edad y estado del paciente, y de cómo responde el paciente al tratamiento. La dosificación, la frecuencia y el modo de administración de cada componente de la combinación se pueden controlar de forma independiente. Por ejemplo, un fármaco se

30 puede administrar por vía oral, mientras que el segundo fármaco se puede administrar por vía intramuscular. La terapia de combinación se puede administrar en ciclos intermitentes que incluyen periodos de descanso para que el cuerpo del paciente tenga la oportunidad de recuperarse de cualquier efecto secundario imprevisto. Los fármacos se pueden formular también juntos de tal manera que en una administración se administren todos los fármacos.

35 La administración de cada fármaco de la combinación puede ser por cualquier medio adecuado que dé como resultado una concentración del fármaco que, combinada con el otro componente, sea capaz de prevenir, retardar o impedir la muerte de las células neuronales y el daño neurológico derivado de la isquemia o hipoxia cerebral.

Aunque es posible que los fármacos de la combinación sean administrados como el producto químico puro, es preferible presentarlos como una composición farmacéutica, denominada también en este contexto formulación farmacéutica. Las composiciones posibles incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, tópica (que incluye administración transdérmica, bucal y sublingual) o parenteral (que incluye administración subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica).

Más comúnmente, estas formulaciones farmacéuticas se prescriben al paciente en "envases para el paciente" que contienen un número de unidades de dosificación u otros medios para la administración de dosis unitarias medidas para ser usadas durante un período de tratamiento distinto en un único envase, normalmente un envase tipo blíster. Los envases para el paciente tienen una ventaja sobre las prescripciones tradicionales, donde un farmacéutico separa el suministro de un producto farmacéutico para un paciente a partir de un suministro a granel, ya que el paciente siempre tiene acceso al prospecto incluido en el envase del paciente, que normalmente falta en las prescripciones tradicionales. La inclusión de un prospecto ha demostrado que mejora el cumplimiento por parte del

El fármaco puede estar contenido, en cualquier cantidad apropiada, en cualquier sustancia vehículo adecuada. El fármaco puede estar presente en una cantidad de hasta un 99 % en peso del peso total de la composición. La composición se puede proporcionar en una forma farmacéutica que sea adecuada para la vía de administración oral, parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular), rectal, cutánea, nasal, vaginal, inhalante, cutánea (parche) u ocular. Por lo tanto, la composición puede estar en la forma de, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, granulados, suspensiones, emulsiones, soluciones, geles incluyendo hidrogeles, pastas, pomadas, cremas, emplastos, empapadores, dispositivos para administración osmótica, supositorios, enemas, inyectables, implantes, pulverizaciones o aerosoles.

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular según la práctica farmacéutica convencional (véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20th ed), ed. A.R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000 y Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J.C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York).

Las composiciones farmacéuticas según la invención se pueden formular para liberar sustancialmente el fármaco activo inmediatamente después de la administración o en cualquier momento o período de tiempo predeterminado después de la administración.

Las formulaciones de liberación controlada incluyen (i) formulaciones que crean una concentración sustancialmente constante del fármaco dentro del cuerpo durante un período de tiempo prolongado; (ii) formulaciones que después de un lapso de tiempo predeterminado crean una concentración sustancialmente constante del fármaco dentro del cuerpo durante un período de tiempo prolongado; (iii) formulaciones que mantienen la acción del fármaco durante un período de tiempo predeterminado manteniendo un nivel de fármaco relativamente eficaz y constante en el cuerpo con una minimización simultánea de los efectos secundarios indeseables asociados a las fluctuaciones del nivel plasmático de la sustancia farmacológica activa; (iv) formulaciones que localizan la acción del fármaco, por ejemplo, mediante la colocación espacial de una composición de liberación controlada adyacente al tejido u órgano enfermo o dentro de él; y (v) formulaciones que dirigen la acción del fármaco mediante el uso de vehículos o derivados químicos para administrar el fármaco a un tipo de célula diana en particular.

La administración de fármacos en la forma de una formulación de liberación controlada es especialmente preferida en los casos en que el fármaco tiene (i) un índice terapéutico estrecho (es decir, la diferencia entre la concentración plasmática que conduce a efectos secundarios dañinos o reacciones tóxicas y la concentración plasmática que conduce a un efecto terapéutico es pequeña; en general, el índice terapéutico, TI, se define como la relación entre la dosis letal mediana (LD50) y la dosis eficaz mediana (ED50)); (ii) un margen de absorción estrecho en el tracto gastrointestinal; o (iii) una semivida biológica muy corta, por lo que se requiere una dosificación frecuente al día para mantener la concentración en plasma en un nivel terapéutico.

Se puede seguir cualquiera de una serie de estrategias con el fin de obtener una liberación controlada en la que la velocidad de liberación sea mayor que la tasa de metabolismo del fármaco en cuestión. La liberación controlada se puede obtener mediante la selección apropiada de diversos parámetros e ingredientes de formulación, que incluyen, por ejemplo, diversos tipos de composiciones y recubrimientos de liberación controlada. Por lo tanto, el fármaco se formula con los excipientes apropiados en una composición farmacéutica que, tras la administración, libera el fármaco de una manera controlada (composiciones de comprimidos o cápsulas de una o múltiples dosis, soluciones oleosas, suspensiones, emulsiones, microcápsulas, microesferas, nanopartículas, parches, y liposomas).

Formas farmacéuticas sólidas para uso oral

Las formulaciones para uso oral incluyen comprimidos que contienen la composición de la invención en una mezcla con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes o agentes de carga (por ejemplo, sacarosa, celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de patata, carbonato de calcio, cloruro de sodio, fosfato de calcio, sulfato de calcio o fosfato de sodio); agentes de granulación y disgregación (por ejemplo, derivados de celulosa incluyendo celulosa microcristalina, almidones incluyendo almidón de patata, croscarmelosa de sodio, alginatos o ácido algínico); agentes aglutinantes (por ejemplo, goma arábiga, ácido algínico, alginato de sodio, gelatina, almidón, almidón pregelatinizado, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, polivinilpirrolidona o polietilenglicol); y agentes lubricantes, deslizantes y antiadhesivos (por ejemplo, ácido esteárico, sílices o talco). Otros excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser colorantes, agentes aromatizantes, plastificantes, humectantes, agentes tamponantes y similares.

Los comprimidos pueden ser sin recubrir o pueden ser recubiertos mediante técnicas conocidas, opcionalmente para retrasar la disgregación y la absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante un período más prolongado. El recubrimiento se puede adaptar para liberar la sustancia farmacológica activa según un patrón predeterminado (por ejemplo, para lograr una formulación de liberación controlada) o se puede adaptar para no liberar la sustancia farmacológica activa hasta después de pasar por el estómago (recubrimiento entérico). El recubrimiento puede ser un recubrimiento de azúcar, un recubrimiento de película (por ejemplo, basado en hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, copolímeros de acrilato, polietilenglicoles y/o polivinilpirrolidona), o un recubrimiento entérico (p. ej., a base de

copolímeros de ácido metacrílico, acetato ftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, succinato acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, poli(acetato ftalato de vinilo), goma laca y/o etilcelulosa). Se puede emplear un material de retardo temporal tal como, por ejemplo, monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

- 5 Las composiciones sólidas en comprimidos pueden incluir un recubrimiento adaptado para proteger la composición de cambios químicos no deseados (por ejemplo, degradación química antes de la liberación de la sustancia farmacológica activa). El recubrimiento se puede aplicar sobre la forma farmacéutica sólida de una manera similar a la descrita en Encyclopedia of Pharmaceutical Technology.

- 10 Los fármacos pueden estar mezclados juntos en un comprimido o pueden estar divididos. Por ejemplo, un primer fármaco está contenido en el interior del comprimido, y un segundo fármaco está en el exterior, de tal manera que una porción sustancial del segundo fármaco se libera antes de la liberación del primer fármaco.

- 15 Las formulaciones para uso oral se pueden presentar también como comprimidos masticables, o como cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte (por ejemplo, almidón de patata, celulosa microcristalina, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín) o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, parafina líquida o aceite de oliva. Los polvos y los granulados se pueden preparar usando los ingredientes mencionados antes para los comprimidos y cápsulas de una manera convencional.

Las composiciones de liberación controlada para uso oral se pueden preparar, por ejemplo, para liberar el fármaco activo mediante el control de la disolución y/o de la difusión de la sustancia farmacológica activa.

- 20 La liberación controlada por disolución o difusión se puede conseguir mediante el recubrimiento apropiado de una formulación de fármacos en comprimidos, cápsulas, pelets o granulados, o mediante la incorporación del fármaco a una matriz apropiada. Un recubrimiento de liberación controlada puede incluir una o más de las sustancias de recubrimiento mencionadas antes y/o, por ejemplo, goma laca, cera de abejas, glicocera, cera de ricino, cera de carnauba, alcohol estearílico, monoestearato de glicerilo, diestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerol, etilcelulosa, resinas acrílicas, ácido dl-poliláctico, acetato-butirato de celulosa, cloruro de polivinilo, acetato de polivinilo, vinilpirrolidona, polietileno, polimetacrilato, metacrilato de metilo, 2-hidroximetacrilato, hidrogeles de metacrilato, 1,3-butilenglicol, metacrilato de etilenglicol, y/o polietilenglicoles. En una formulación de matriz de liberación controlada, el material de la matriz también puede incluir, por ejemplo, metilcelulosa hidratada, cera de carnauba y alcohol estearílico, carbopol 934, silicona, triestearato de glicerilo, acrilato de metilo-metacrilato de metilo, cloruro de polivinilo, polietileno y/o fluorocarbono halogenado.

- 30 Una composición de liberación controlada que contiene uno o más de los fármacos de las combinaciones reivindicadas puede estar también en la forma de un comprimido o cápsula flotante (es decir, un comprimido o cápsula que, tras la administración oral, flota en la parte superior del contenido gástrico durante un cierto período de tiempo). Se puede preparar una formulación del fármaco o fármacos en comprimidos flotantes mediante la granulación de una mezcla del fármaco o fármacos con excipientes y 20-75 % p/p de hidrocoloides, tales como hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa o hidroxipropilmetilcelulosa. Los gránulos obtenidos se pueden comprimir entonces en comprimidos. En contacto con el jugo gástrico, el comprimido forma una barrera de gel sustancialmente impermeable al agua alrededor de su superficie. Esta barrera de gel forma parte del mantenimiento de una densidad inferior a uno, permitiendo de este modo que el comprimido permanezca flotando en el jugo gástrico.

Líquidos para administración oral

- 40 Los polvos, polvos dispersables o gránulos adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua son formas farmacéuticas convenientes para administración oral. La formulación en forma de suspensión proporciona el ingrediente activo en una mezcla con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes de suspensión adecuados son, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, alginato de sodio y similares.

- 45 Composiciones parenterales

- 50 La composición farmacéutica se puede administrar también por vía parenteral mediante inyección, perfusión o implantación (intravenosa, intramuscular, subcutánea o similares) en formas farmacéuticas, formulaciones, o mediante dispositivos de administración adecuados o implantes que contienen vehículos y adyuvantes convencionales no tóxicos, farmacéuticamente aceptables. La formulación y la preparación de tales composiciones son bien conocidas por los expertos en la técnica de la formulación farmacéutica.

- 55 Las composiciones para uso parenteral se pueden proporcionar en formas farmacéuticas unitarias (por ejemplo, en ampollas de dosis única), o en viales que contienen varias dosis y en los que se puede añadir un conservante adecuado (véase a continuación). La composición puede estar en la forma de una solución, una suspensión, una emulsión, un dispositivo de perfusión o un dispositivo de administración para la implantación o se puede presentar como un polvo seco para ser reconstituido con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Además del fármaco o fármacos activos, la composición puede incluir vehículos y/o excipientes adecuados parenteralmente aceptables. El fármaco o fármacos activos se pueden incorporar en microesferas, microcápsulas, nanopartículas, liposomas o

similares para liberación controlada. La composición puede incluir agentes de suspensión, de solubilización, de estabilización, de ajuste del pH y/o agentes dispersantes.

Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden estar en la forma adecuada para inyección estéril. Para preparar dicha composición, el fármaco o fármacos activos adecuados se disuelven o se suspenden en un vehículo líquido parenteralmente aceptable. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están el agua, agua ajustada a un pH adecuado mediante la adición de una cantidad apropiada de ácido clorhídrico, hidróxido de sodio o un tampón adecuado, 1,3-butanodiol, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. La formulación acuosa puede contener también uno o más conservantes (por ejemplo, p-hidroxibenzoato de metilo, de etilo o de n-propilo). En los casos en que uno de los fármacos sea sólo poco soluble o ligeramente soluble en agua, se puede añadir un agente solubilizador o potenciador de la disolución, o el disolvente puede incluir 10-60 % p/p de propilenglicol o similares.

Las composiciones parenterales de liberación controlada pueden estar en forma de suspensiones acuosas, microesferas, microcápsulas, microesferas magnéticas, soluciones oleosas, suspensiones oleosas o emulsiones. Alternativamente, el fármaco o fármacos activos se pueden incorporar en vehículos, liposomas, nanopartículas, implantes o dispositivos de perfusión biocompatibles. Los materiales para uso en la preparación de microesferas y/o microcápsulas son, por ejemplo, polímeros biodegradables/bioerosionables tales como poligalactina, poli(cianoacrilato de isobutilo), poli(2-hidroxietil-L-glutamina). Los vehículos biocompatibles que se pueden usar cuando se formula una formulación parenteral de liberación controlada son carbohidratos (por ejemplo, dextranos), proteínas (por ejemplo, albúmina), lipoproteínas o anticuerpos. Los materiales para uso en implantes pueden ser no biodegradables (por ejemplo, polidimetil siloxano) o biodegradables (por ejemplo, poli(caprolactona), poli(ácido glicólico) o poli(orto ésteres)).

Vías alternativas

Aunque menos preferidas y menos convenientes, se pueden contemplar otras vías de administración, y por lo tanto otras formulaciones. A este respecto, para la aplicación rectal, las formas farmacéuticas adecuadas para una composición incluyen los supositorios (de tipo emulsión o suspensión), y las cápsulas de gelatina rectales (soluciones o suspensiones). En una formulación típica de supositorios, el fármaco o fármacos activos se combinan con una base de supositorios apropiada farmacéuticamente aceptable tal como manteca de cacao, ácidos grasos esterificados, gelatina glicerínada y diversas bases solubles o dispersables en agua como los polietilenglicoles. Se pueden incorporar diversos aditivos, potenciadores o tensioactivos.

Las composiciones farmacéuticas también se pueden administrar tópicamente sobre la piel para su absorción percutánea en formas farmacéuticas o formulaciones que contienen vehículos y excipientes convencionales no tóxicos farmacéuticamente aceptables incluyendo microesferas y liposomas. Las formulaciones incluyen cremas, pomadas, lociones, linimentos, geles, hidrogeles, soluciones, suspensiones, bastoncillos, aerosoles, pastas, emplastos y otros tipos de sistemas de administración transdérmica de fármacos. Los vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables pueden incluir agentes emulsionantes, antioxidantes, agentes tamponantes, conservantes, humectantes, potenciadores de la penetración, agentes quelantes, agentes formadores de gel, bases de pomadas, perfumes y agentes protectores de la piel.

Los conservantes, humectantes, potenciadores de la penetración pueden ser parabenos, tales como p-hidroxibenzoato de metilo o de propilo, y cloruro de benzalconio, glicerina, propilenglicol, urea, etc.

Las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente para administración tópica sobre la piel se pueden usar también en conexión con la administración tópica sobre la parte del cuerpo que se va a tratar o cerca de ella. Las composiciones se pueden adaptar para aplicación directa o para aplicación por medio de dispositivos especiales de administración de fármacos tales como apósitos o alternativamente emplastos, compresas, esponjas, tiras u otras formas de material flexible adecuado.

Dosis y duración del tratamiento

Se apreciará que los fármacos de la combinación se pueden administrar de forma simultánea, ya sea en la misma o en diferente formulación farmacéutica o de forma secuencial. Si hay administración secuencial, el retraso en la administración del segundo ingrediente activo (o ingrediente adicional) no debe ser tal como para perder el beneficio del efecto eficaz de la combinación de los ingredientes activos. Un requisito mínimo para una combinación según esta descripción es que la combinación debe tener como objetivo el uso combinado con el beneficio del efecto eficaz de la combinación de los ingredientes activos. El uso previsto de una combinación se puede inferir por las instalaciones, disposiciones, adaptaciones y/u otros medios para ayudar con el uso de la combinación según la invención.

Las cantidades terapéuticamente eficaces de los fármacos en una combinación de esta invención incluyen, por ejemplo, cantidades que son eficaces para reducir la muerte de las células neuronales deteniendo o ralentizando así la progresión del daño neurológico o los síntomas del mismo una vez que se ha manifestado clínicamente.

Aunque los fármacos activos de la presente invención se pueden administrar en dosis divididas, por ejemplo, dos o tres veces al día, es preferible una sola dosis diaria de cada fármaco en la combinación, siendo lo más preferible una sola dosis diaria de todos los fármacos en una única composición farmacéutica (forma farmacéutica unitaria).

5 La administración puede ser de una a varias veces al día durante varios días a varios años, e incluso puede ser durante toda la vida del paciente. Aunque el tratamiento se podría limitar a horas o a varios días después del inicio del suceso isquémico o hipóxico, una administración crónica o al menos repetida periódicamente a largo plazo también podría estar indicada en pacientes con alto riesgo de sufrir isquemia o hipoxia cerebral.

10 El término "forma farmacéutica unitaria" se refiere a unidades físicamente independientes (tales como cápsulas, comprimidos o cilindros de jeringas cargadas) adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material o materiales activos calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el vehículo farmacéutico requerido.

15 La cantidad de cada fármaco en una composición de dosificación unitaria preferida depende de varios factores que incluyen el método de administración, el peso corporal y la edad del paciente, la fase del suceso isquémico o hipóxico, el riesgo de posibles efectos secundarios en función del estado general de salud de la persona a ser tratada. Además, la información farmacogenómica (el efecto del genotipo sobre el perfil farmacocinético, farmacodinámico o de eficacia de un producto terapéutico) acerca de un paciente en particular puede afectar a la dosis utilizada.

20 Excepto cuando se responda a sucesos isquémicos o hipóxicos importantes, en los que se pueden requerir dosis más altas, las dosis preferidas de cada fármaco en la combinación deben ser tan bajas como sea posible, por ejemplo, una dosis en la que la combinación sea eficaz, aunque los medicamentos no tengan individualmente ninguna actividad sustancial.

25 Una ventaja notable de la invención es que cada compuesto se puede usar a dosis bajas en una terapia de combinación, a la vez que se produce, en combinación, un beneficio clínico sustancial para el paciente. La terapia de combinación de hecho puede ser eficaz a dosis en las que los compuestos tienen un efecto individual bajo o nulo. Por consiguiente, una ventaja particular de la invención radica en la capacidad de usar dosis subóptimas de cada compuesto, es decir, dosis que son más bajas que las dosis terapéuticas que se prescriben normalmente, preferiblemente 1/2 de las dosis terapéuticas, más preferiblemente 1/3, 1/4, 1/5, o incluso más preferiblemente 1/10 de las dosis terapéuticas. En ejemplos particulares, se usan dosis tan bajas como 1/20, 1/30, 1/50, 1/100, o incluso más bajas, de las dosis terapéuticas. A tales dosificaciones subterapéuticas, los compuestos no deben presentar
30 ningún efecto secundario, a la vez que la combinación o combinaciones según la invención son completamente eficaces para proteger a las células neuronales de la muerte inducida por la isquemia o la hipoxia.

Una dosificación preferida corresponde a cantidades desde el 1 % hasta el 50 % de las que se prescriben normalmente para el tratamiento de mantenimiento a largo plazo.

35 La dosis más preferida puede corresponder a cantidades desde el 1 % hasta el 10 % de las que se prescriben normalmente para el tratamiento de mantenimiento a largo plazo.

A continuación, se proporcionan ejemplos específicos de dosificaciones de fármacos descritos en la invención:

- Mexiletina por vía oral de aproximadamente 6 a 120 mg al día, preferiblemente menos de 90 mg al día, más preferiblemente menos de 60 mg al día, aún más preferiblemente menos de 30 mg al día, siendo tales dosis particularmente adecuadas para administración oral,
- 40 - Cinacalcet por vía oral de aproximadamente 0,3 a 36 mg al día, preferiblemente menos de 20 mg al día, más preferiblemente menos de 10 mg al día, aún más preferiblemente menos de 1 mg al día, siendo tales dosis particularmente adecuadas para administración oral.

45 Cuando la composición de la invención comprende, como ingrediente activo, mexiletina y cinacalcet, los dos compuestos se pueden usar en diferentes proporciones, por ejemplo, en una relación molar de cinacalcet/mexiletina comprendida preferiblemente entre 0,1 a 1000, más preferiblemente entre 0,5 a 500, o aún más preferiblemente de 1 a 100.

50 Se entenderá que la cantidad de fármaco realmente administrada será determinada y adaptada por un médico, a la luz de circunstancias relevantes, incluida la afección o afecciones a tratar, la composición exacta a administrar, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y la vía de administración elegida. Por lo tanto, los intervalos de dosis anteriores están destinados a proporcionar orientación general y apoyo para las enseñanzas de la presente memoria, pero no se pretende que limiten el alcance de la invención.

Otros aspectos y ventajas de la invención se describen en la siguiente sección experimental, que sirve para ilustrar la invención.

Ejemplos

Algunas de las combinaciones incluidas en los ejemplos no forman parte de la invención.

Ejemplo 1: Efecto protector de los tratamientos de combinación de la invención frente a la muerte de las células neuronales inducida por isquemia/hipoxia.

5 Métodos

Preparación de células corticales neuronales de rata

Se cultivan neuronas corticales de rata como se describe por Singer *et al.* (27). Se matan las ratas hembras preñadas de 15 días de gestación por dislocación cervical (Ratas Wistar) y se extraen los fetos del útero. Se separa la corteza y se coloca en medio de Leibovitz (L15) enfriado con hielo que contiene 2 % de penicilina a 10,000 U/ml y estreptomicina a 10 mg/ml y 1 % de albúmina de suero bovino (BSA). Las cortezas se disocian con tripsina durante 20 minutos a 37 °C (0,05 %). Se para la reacción por la adición de medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) que contiene DNasa1 grado II y 10 % de suero de ternera fetal (FCS). A continuación, se disocian las células mecánicamente por medio de 3 pases en serie a través de una pipeta de 10 ml y se centrifugan a 515 x g durante 10 minutos a + 4 °C. El sobrenadante se descarta y el sedimento de células se resuspende en un medio de cultivo definido que consiste en Neurobasal complementado con B27 (2 %), L-glutamina (0,2 mM), 2 % de solución de PS y 10 ng/ml de BDNF. Las células viables se cuentan en un citómetro Neubauer usando el test de exclusión de azul tripán. Se siembran las células a una densidad de 30 000 células/pocillo en placas de 96 pocillos (los pocillos están prerrecubiertos con poli-L-lisina (10 µg/ml)) y se cultivan a + 37 °C en una atmósfera de aire humidificado (95 %)/CO₂ (5 %).

20 Ensayos de privación de oxígeno y glucosa (modelo de isquemia *in vitro*)

El efecto neuroprotector de los compuestos se evalúa mediante la cuantificación de la red de neuritas (inmunotinción de neurofilamentos (NF)) utilizando anticuerpos MAP2. El riluzol, un fármaco neuroprotector (Riluteck®, 5 µM) se usa como control positivo.

Después de 10 días de cultivo de las neuronas, los fármacos candidatos se disuelven en medio de cultivo (+ 0,1 % de DMSO) y después se preincuban con las neuronas durante 1 hora antes de la privación de oxígeno y glucosa. Una hora después de la incubación del fármaco candidato, se elimina el medio y se añade medio fresco sin glucosa. Este medio está compuesto por DMEM sin glucosa (Invitrogen) suplementado con 2 % de B27, L-glutamina 0,2 mM, 1 % de solución de PS, 10 ng/ml de BDNF. Las células se transfieren a un incubador anaeróbico con 95 % de N₂ y 5 % de CO₂ a 37 °C.

Después de 2 horas, se añade D-glucosa 25 mM en medio de cultivo y se transfieren las células a un incubador clásico con 95 % de aire/5 % de CO₂ a 37 °C. Después de 24 horas de reperfusión con glucosa y oxígeno, las células se fijan mediante una solución fría de alcohol/ácido acético durante 5 minutos.

Después de permeabilización con saponina (Sigma), se bloquean las células durante 2 horas con PBS que contiene 10 % de suero de cabra, después se incuban las células con anticuerpo monoclonal primario de ratón contra MAP2 (MAP2, Sigma). Estos anticuerpos se revelan con IgG de cabra anti-ratón con Alexa Fluor 488 (Molecular probe).

Los núcleos de las células se marcan con un marcador fluorescente (solución Hoechst, SIGMA). Se utilizan seis pocillos por condición para evaluar la supervivencia neuronal en 3 cultivos diferentes.

Se utilizan seis pocillos por condición para evaluar la supervivencia neuronal en 3 cultivos diferentes. Para cada condición, se toman y se analizan 2x10 imágenes por pocillo utilizando InCell Analyzer TM 1000 (GE Healthcare) con 20 aumentos.

Resultados

Como se muestra en la Tabla 2 a continuación, todas las combinaciones de fármacos que siguen proporcionan un efecto protector contra la muerte celular de las células neuronales corticales inducida por isquemia/hipoxia.

Tabla 2

Combinación de fármacos	Efecto protector frente a la isquemia/hipoxia
Baclofeno-Acamprosato	+
Baclofeno-Torasemida	+
Baclofeno-Homotaurina	+

Combinación de fármacos	Efecto protector frente a la isquemia/hipoxia
Baclofeno-Acamprosato-Torasemida	+
Mexiletina y Cinacalcet	+
Sulfisoxazol y Torasemida	+

Las figuras 1 a 3 muestran además que los tratamientos de combinación descritos en la invención protegen fuertemente a las neuronas de la privación de oxígeno y de glucosa.

Como se muestra en las figuras 1 a 3, se observa una protección eficaz usando concentraciones de fármaco a las que los fármacos, solos, no tienen ningún efecto protector significativo. Por ejemplo, se observa un efecto protector significativo de la combinación descrita de baclofeno (80 nM)/acamprosato (0,32 nM) o de la combinación reivindicada de cinacalcet (64 pM)/mexiletina (25,6 pM) o de la combinación descrita de torasemida (80 nM)/sulfisoxazol (1,36 nM) en la isquemia, mientras que no se obtiene ninguna protección significativa cuando se usan solos baclofeno, acamprosato, cinacalcet, mexiletina y sulfisoxazol, en las mismas concentraciones.

Por lo tanto, estos resultados demuestran un efecto potente y sinérgico de las anteriores terapias de combinación sobre la isquemia y la hipoxia cerebral.

Ejemplo 2: Efecto protector de los tratamientos de combinación de la invención frente a la toxicidad del glutamato.

La toxicidad del glutamato se describe a menudo en la literatura como parte de la cascada isquémica que conduce a la muerte de las células neuronales. Las terapias de combinación se han ensayado entonces por su efecto protector contra la toxicidad del glutamato *in vitro*.

Métodos

Se preparan células corticales neuronales de rata como en la sección del ejemplo 1.

Ensayos de toxicidad de glutamato

El efecto neuroprotector de los compuestos se evalúa mediante la cuantificación de la red de neuritas (inmunotinción de neurofilamentos (NF)) que revela específicamente las neuronas glutamatérgicas.

Después de 12 días de cultivo de las neuronas, los fármacos de las combinaciones candidatas se disuelven en medio de cultivo (+ 0,1 % de DMSO). Las combinaciones candidatas se preincuban entonces con neuronas durante 1 hora antes de la lesión por glutamato. Una hora después de la incubación, se añade glutamato durante 20 minutos, hasta una concentración final de 40 μ M, en presencia de las combinaciones candidatas, para evitar diluciones adicionales de los fármacos. Al final de la incubación, se cambia el medio por medio que tiene la combinación candidata pero sin glutamato. El cultivo se fija 24 horas después de la lesión por glutamato. Se utiliza MK801 (20 μ M) como control positivo.

Después de permeabilización con saponina (Sigma), se bloquean las células durante 2 h con PBS que contiene suero de cabra al 10 %, después se incuban las células con anticuerpo monoclonal primario de ratón contra los anticuerpos antineurofilamentos (NF, Sigma). Este anticuerpo se revela con IgG de cabra anti-ratón con Alexa Fluor 488 (Molecular probe).

Los núcleos de las células se marcan con un marcador fluorescente (solución Hoechst, SIGMA) y se cuantifica la red de neuritas. Se utilizan seis pocillos por condición para evaluar la supervivencia neuronal en 3 cultivos diferentes.

Resultados

Los resultados se muestran en la Tabla 3 a continuación. Estos resultados demuestran que todas las combinaciones de fármacos que siguen proporcionan un efecto protector frente a la toxicidad del glutamato para las células neuronales corticales.

Tabla 3

Combinación de fármacos	Efecto protector frente a la toxicidad de glutamato
Baclofeno-Acamprosato	+
Baclofeno-Torasemida	+
Baclofeno-Homotaurina	+

Combinación de fármacos	Efecto protector frente a la toxicidad de glutamato
Baclofeno-Acamprosato-Torasemida	+
Mexiletina y Cinacalcet	+
Sulfisoxazol y Torasemida	+

Como se observa a modo de ejemplo en las figuras 4 y 5, las combinaciones descritas en la invención protegen fuertemente a las neuronas de la toxicidad del glutamato. Los inventores han demostrado que se observa una protección eficaz utilizando concentraciones a las que los fármacos solos no tienen ningún efecto significativo. Por ejemplo, la intoxicación por glutamato se previene significativamente con la combinación reivindicada de cinacalcet (64 pM)/mexiletina (25,6 pM) o con la combinación descrita de sulfisoxazol (6,8 nM)/torasemida (400 nM), mientras que, a las mismas concentraciones, cinacalcet, mexiletina, sulfisoxazol o torasemida, utilizados solos, no tienen ningún efecto significativo sobre la intoxicación por glutamato.

La protección documentada anteriormente contra la toxicidad del glutamato junto con la protección proporcionada en condiciones de privación de glucosa y oxígeno muestran que las terapias de combinación descritas en la invención son eficaces para proteger las células neuronales en condiciones isquémicas o hipóxicas.

Referencias

- Maynard KI *et al.* Neuroprotection against ischemia by metabolic inhibition revisited. A comparison of hypothermia, a pharmacologic cocktail and magnesium plus mexiletine. *Ann N Y Acad Sci.*, 1999, 890; p.240-54.
- Roitberg, B., Transplantation for stroke. *Neurological Research*, 2004. 26(3): p. 256-264.
- Armogida, M., *et al.*, The protective role of catalase against cerebral ischemia *in vitro* and *in vivo*. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 24(3): p. 735-47.
- Ikonomidou, C. and L. Turski, Why did NMDA receptor antagonists fail clinical trials for stroke and traumatic brain injury? *The Lancet Neurology*, 2002. 1(6): p. 383-386.
- Horn, J. and M. Limburg, Calcium antagonists for acute ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev*, 2000(2): p. CD001928.
- Cheng, Y.D., L. Al-Khoury, and J. A. Zivin, Neuroprotection for ischemic stroke: two decades of success and failure. *NeuroRx*, 2004. 1(1): p. 36-45.
- Gribkoff, V.K., *et al.*, Targeting acute ischemic stroke with a calcium-sensitive opener of maxi-K potassium channels. *Nat Med*, 2001. 7(4): p. 471-7.
- Endres, M., *et al.*, Attenuation of delayed neuronal death after mild focal ischemia in mice by inhibition of the caspase family. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1998. 18(3): p. 238-47.
- Ehrenreich, H., *et al.*, Recombinant human erythropoietin in the treatment of acute ischemic stroke. *Stroke*, 2009. 40(12): p. e647-56.
- Steffansen, B., *et al.*, Intestinal solute carriers: an overview of trends and strategies for improving oral drug absorption. *Eur J Pharm Sci*, 2004. 21(1): p. 3-16.
- Yang, C.Y., A.H. Dantzig, and C. Pidgeon, Intestinal peptide transport systems and oral drug availability. *Pharm Res*, 1999. 16(9): p. 1331-43.
- Heimbach, T., *et al.*, Enzyme-mediated precipitation of parent drugs from their phosphate prodrugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 2003. 261(1&2): p. 81-92.
- Beaumont, K., *et al.*, Design of ester prodrugs to enhance oral absorption of poorly permeable compounds: challenges to the discovery scientist. *Curr Drug Metab*, 2003. 4(6): p. 461-85.
- Ettmayer, P., *et al.*, Lessons Learned from Marketed and Investigational Prodrugs. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2004. 47(10): p. 2393-2404.
- Stella, V.e.a., *Prodrugs: Challenges and Rewards*. 2007, New-York.
- Wermuth, C, Chap 33: Designing prodrugs and bioprecursors, in *The Practice of Medicinal Chemistry*. 2003.

17. Pezron, I., *et al.*, Prodrug strategies in nasal drug delivery. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2002. 12(3): p. 331-340.
18. Stella, V.J., Prodrugs as therapeutics. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2004. 14(3): p. 277-280.
- 5 19. Stella, V.J. and K.W. Nti-Addae, Prodrug strategies to overcome poor water solubility. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007. 59(7): p. 677-94.
20. Higuchi, T.S., V., Prodrugs As Novel Drug Delivery Systems. ACS Symposium Series. American Chemical Society. 1975, Washington DC.
21. Roche, E.B., Design of Biopharmaceutical Properties through Prodrugs and Analogs. 1977: The Academy (Washington)
- 10 22. Lai, R., *et al.*, Arbaclofen placarbil, a novel R-baclofen prodrug: improved absorption, distribution, metabolism, and elimination properties compared with R-baclofen. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009. 330(3): p. 911-21.
23. Wishart, D.S., *et al.*, DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. *Nucleic Acids Res*, 2008. 36(Database issue): p. D901-6.
- 15 24. Johnston, S.C., *et al.*, Short-term prognosis after emergency department diagnosis of TIA. *JAMA*, 2000. 284(22): p. 2901-6.
25. Stahl H., Wermuth C. G. (Eds.) *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*. Wiley-VCH; 2 edition (March 29, 2011).
- 20 26. Wishart DS, Knox C, Guo AC, Cheng D, Shrivastava S, Tzur D, Gautam B, Hassanali M. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. *Nucleic Acids Res*. 36, Issuesuppl 1. D901-D906 (2008).
27. Hanafi R, Mosad S, Abouzid K, Niess R, Spahn-Langguth H. Baclofen ester and carbamate prodrug candidates: a simultaneous chromatographic assay, resolution optimized with DryLab. *J Pharm Biomed Anal*, 2011. 56(3): p.569-76.
- 25 28. Singer C, Figueroa-Masot X., Batchelor R., and Dorsa D. Mitogen-activated protein kinase pathway mediates estrogen neuroprotection after glutamate toxicity in primary cortical neurons. *J. Neuroscience*, 1999. 19(7):2455-2463.
29. Wang, Y. and Z.H. Qin, Molecular and cellular mechanisms of excitotoxic neuronal death. *Apoptosis*, 2010. 15(11): p. 1382-402.
- 30 30. Bano, D., *et al.*, The plasma membrane Na⁺/Ca²⁺ exchanger is cleaved by distinct protease families in neuronal cell death. *Ann N Y Acad Sci*, 2007. 1099: p. 451-5.
31. Crosby, N., K.H. Deane, and C.E. Clarke, Amantadine in Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 2003(1): p. CD003468.
32. Andrew R. Leach, Valerie J. Gillet. *An Introduction to Chemoinformatics*. Springer 2007.
- 35 33. Small Molecule Subgraph Detector (SMSD) toolkit; Syed A Rahman, Matthew Bashton, Gemma L Holliday, Rainer Schrader and Janet M Thornton; *Journal of Cheminformatics* 2009, 1: 12.

Resumen

La presente invención se refiere a nuevas composiciones para proteger a las células neuronales de sucesos isquémicos o hipóxicos. Más precisamente, esta invención proporciona nuevas terapias de combinación que protegen eficazmente a las células neuronales de la isquemia o hipoxia.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende
 - (i) mexiletina o uno de sus metabolitos seleccionado de 6-hidroximetilmexiletina, 4-hidroximexiletina, 3-hidroximexiletina (MHM) y N-hidroximexiletina glucurónido; y
 - (ii) cinacalcet, o su metabolito ácido hidrocínámico,
o cualquiera de sus sales, enantiómeros, o racematos, farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento preventivo o curativo de una lesión isquémica cerebral o hipóxica cerebral en un sujeto.
2. La composición para uso según la reivindicación 1, en donde dicha lesión isquémica es una lesión isquémica focal o una lesión isquémica global.
3. La composición para uso según la reivindicación 1 o 2, en donde dicho sujeto padece o es susceptible de padecer ictus, ictus isquémico agudo, ataque isquémico transitorio, ictus hemorrágico agudo, traumatismo craneoencefálico, hemorragias cerebrales, paro cardíaco, edema cerebral, hidrocefalia, asfixia, trombosis, embolia, tromboembolia, aterosclerosis, hipotensión severa prolongada, hipoxia intrauterina, hipoxia del nacimiento, complicaciones de la cirugía cardíaca o complicaciones neuroquirúrgicas.
4. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para reducir, disminuir, prevenir o retardar el daño neuronal o la muerte de las células neuronales en un sujeto que tiene isquemia o hipoxia.
5. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para proteger a un sujeto de la isquemia o hipoxia cerebral.
6. La composición para uso de la reivindicación 1, para tratar la isquemia o hipoxia cerebral, más preferiblemente para proteger las células neuronales durante un suceso cerebral isquémico o hipóxico, en un sujeto que ha sufrido, sufre o tiene riesgo de sufrir ictus.
7. La composición para uso de la reivindicación 1, para prevenir la isquemia o hipoxia cerebral, más preferiblemente para proteger las células neuronales durante un suceso cerebral isquémico o hipóxico, en un sujeto sometido a cirugía cardíaca o neurocirugía.
8. La composición para uso de la reivindicación 1, para tratar la isquemia o hipoxia cerebral, más preferiblemente para proteger las células neuronales durante un suceso cerebral isquémico o hipóxico, en un sujeto que ha sufrido un ataque isquémico transitorio.
9. La composición para uso de la reivindicación 1, para tratar la isquemia o hipoxia cerebral, más preferiblemente para proteger las células neuronales durante un suceso cerebral isquémico o hipóxico, en un sujeto en riesgo de sufrir lesión por reperusión.
10. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición comprende además un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
11. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde los compuestos de dicha composición se formulan o se administran juntos, por separado o secuencialmente.
12. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha composición se administra repetidamente al sujeto.
13. Mexiletina o una sal, enantiómero o racemato farmacéuticamente aceptable de la misma, en combinación con cinacalcet, o una sal, enantiómero o racemato farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento preventivo o curativo de una lesión isquémica cerebral o hipóxica cerebral en un sujeto.

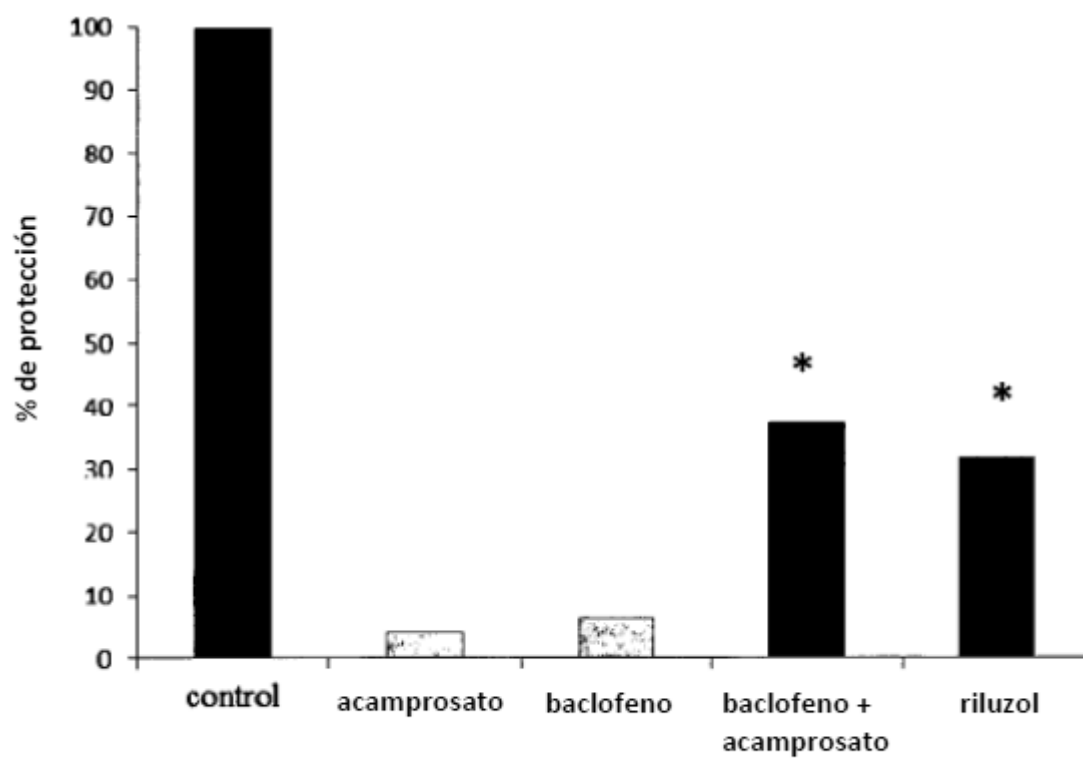


Figura 1

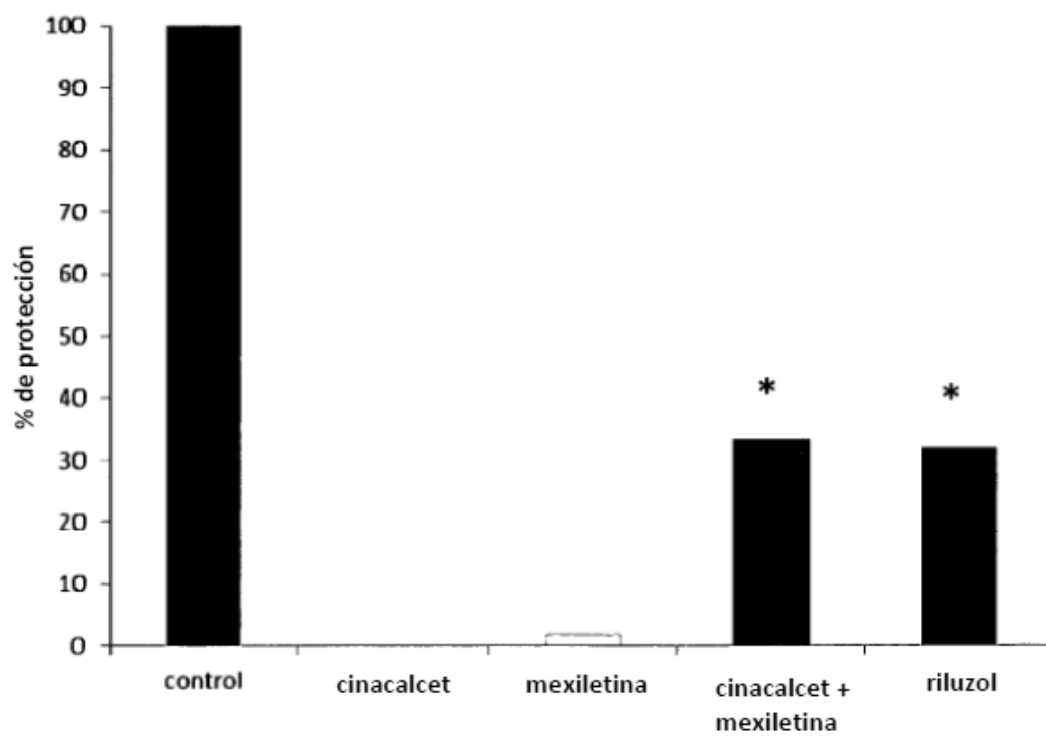


Figura 2

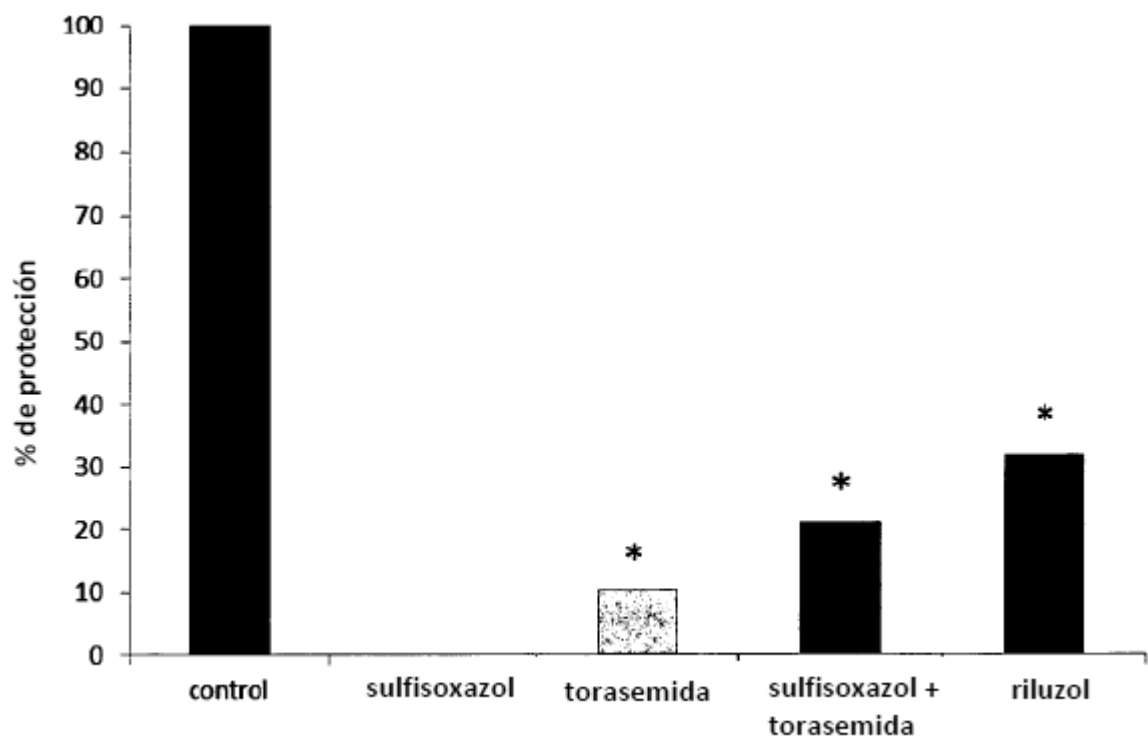


Figura 3

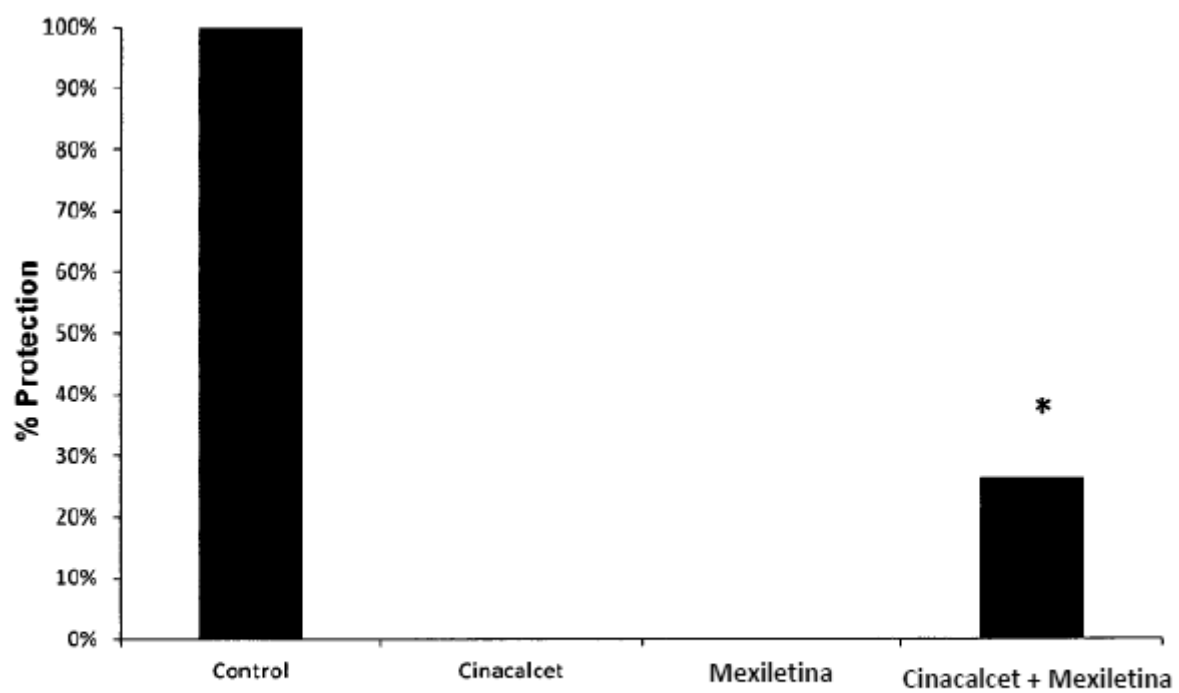


Figura 4

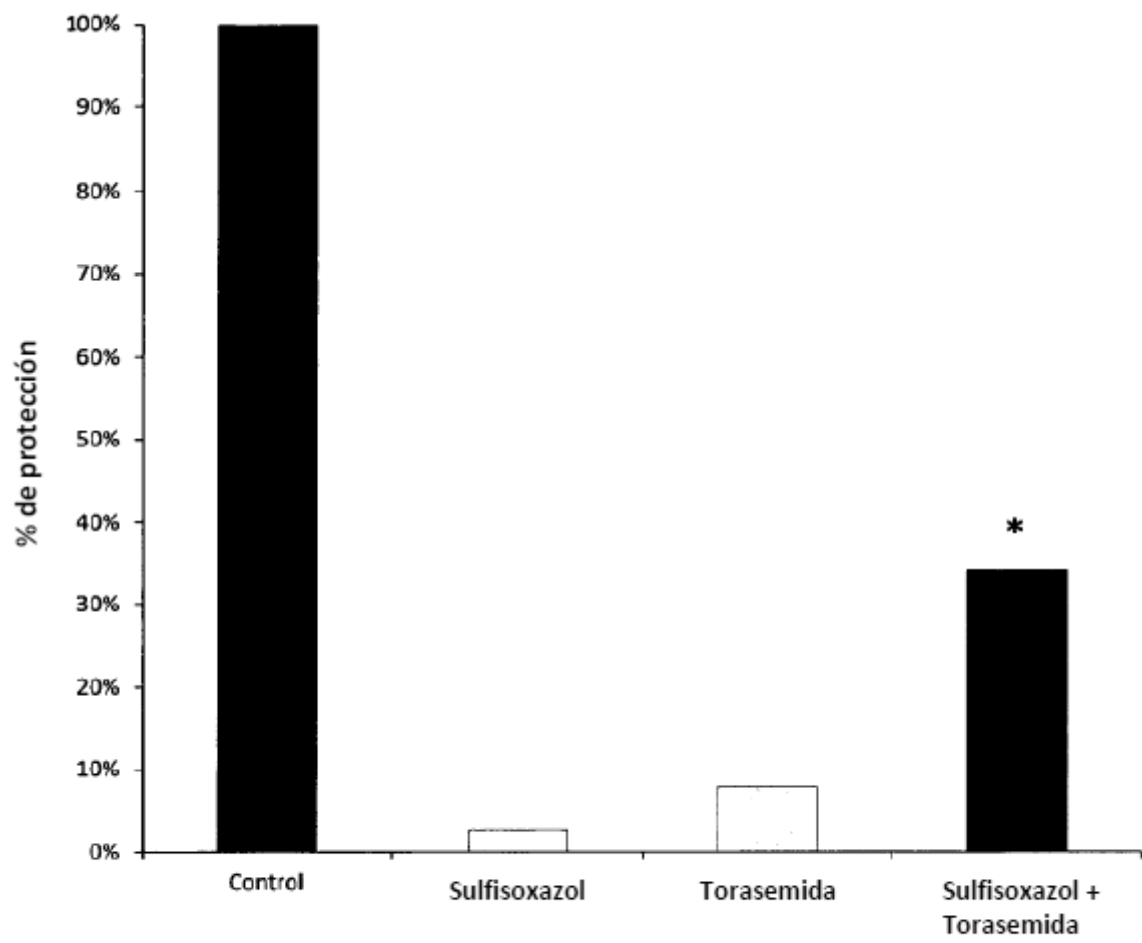


Figura 5