

(22) Data de pedido: 2008.10.02	(73) Titular(es): KOWA COMPANY, LTD.	
(30) Prioridade(s): 2007.10.03 JP 2007259682	6-29, NISHIKI 3-CHOME NAKA-KU NAGOYA-SHI,	JP
(43) Data de publicação do pedido: 2010.06.09	AICHI-KEN 460-8625	
(45) Data e BPI da concessão: 2012.08.01	(72) Inventor(es):	
188/2012	FUMIYASU SATO	JP
	YASUNOBU YOSHINAKA	JP
	TARO AOKI	JP
	(74) Mandatário:	
	ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA	
	RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA	PT

(54) Epígrafe: **INIBIDOR DA MORTE DE CÉLULAS NERVOSAS**

(57) Resumo:

O PRESENTE INVENTO PROPORCIONA UM MEDICAMENTO EXIBINDO UMA EXCELENTE ACÇÃO INIBIDORA DA MORTE DE CÉLULAS NERVOSAS. O PRESENTE INVENTO REFERE-SE A UM INIBIDOR DA MORTE DE CÉLULAS NERVOSAS COMPREENDENDO UMA PITAVASTATINA E DONEPEZIL OU UM SAL DESTES EM COMBINAÇÃO.

RESUMO

"Inibidor da morte de células nervosas"

O presente invento proporciona um medicamento exibindo uma excelente acção inibidora da morte de células nervosas. O presente invento refere-se a um inibidor da morte de células nervosas compreendendo uma pitavastatina e donepezil ou um sal destes em combinação.

DESCRIÇÃO

"Inibidor da morte de células nervosas"

Campo Técnico

O presente invento refere-se a um inibidor da morte de células nervosas, e particularmente, a um agente protector dos nervos cerebrais possuindo uma acção inibidora da morte das células nervosas. Mais particularmente, o presente invento refere-se a um inibidor da progressão de uma doença demencial tal como demência degenerativa, que é representada por demência vascular ou demência de tipo Alzheimer; um agente profiláctico e/ou terapêutico para doenças demenciais tais como demência degenerativa, que é representado por demência vascular ou demência de tipo Alzheimer; um agente profiláctico contra a recorrência de enfarte cerebral; ou um agente profiláctico e/ou terapêutico para enfarte cerebral, o agente possuindo uma acção inibidora da morte de células nervosas.

Arte Antecedente

Juntamente com a dinâmica do envelhecimento da população, um aumento no número de pacientes num estado de função cognitiva diminuída, isto é, pacientes possuindo uma doença demencial, coloca um problema social. A doença demencial é definida como "um estado no qual a função da memória e outras funções cognitivas se deterioraram a tal ponto que interferem com a vida quotidiana, através das mudanças orgânicas ocorrendo no cérebro em resultado de doenças cerebrovasculares, doença de Alzheimer e outros factores".

A demência é largamente classificada como demência vascular e demência degenerativa com base na causa, mas todas resultam em queda das células nervosas. Na actual situação em que não são conhecidos métodos eficazes para a sua recuperação, a inibição da progressão da doença será o objectivo principal.

Conhecido como um tipo de demência degenerativa, estima-se que a demência de tipo Alzheimer afete cerca de 18 milhões de pacientes em todo o mundo, antecipando-se que o número aumente no futuro, e esperando-se o desenvolvimento de um método para prevenção ou um método para tratamento. Como características patológicas da demência de tipo Alzheimer, pode ser mencionada a atrofia do tecido cerebral e a emergência de placa senil no córtex cerebral, e verifica-se que a placa senil está associada à deposição de β -amilóide.

Como método para tratamento de demência de tipo Alzheimer, é conhecido o desenvolvimento de um novo fármaco com base na hipótese colinérgica (Documento sem ser de Patente 1), ou um novo fármaco baseado na hipótese da cascata de amilóide (Documento sem ser de Patente 2).

Entre eles, a hipótese colinérgica baseia-se no facto de a actividade de acetilcolina-sintetase ser especificamente reduzida no córtex cerebral de pacientes com demência de tipo Alzheimer, e a hipótese está associada a uma perspectiva de que a suplementação da quantidade de acetilcolina através de quaisquer meios conduzirá ao tratamento. Como agente terapêutico baseado nesta hipótese, foi criado cloridrato de donepezil que tem uma acção inibidora contra a acetilcolinesterase, uma enzima que degrada a acetilcolina, e está a produzir certos efeitos. No entanto, uma vez que o fármaco que se baseia na hipótese colinérgica está direccionado ao reforço do circuito neural, existem limites à eficácia do fármaco tendo em conta o facto de que as células nervosas continuam a decair, ao longo do progresso da condição de doença.

Por outro lado, a hipótese da cascata de amilóide está associada à perspectiva de que a agregação e deposição de β -amilóide provoca alterações nas neurofibrilhas, eventualmente causando a morte de células nervosas, e a prevenção da deposição de β -amilóide conduzirá ao tratamento. Como fármaco terapêutico baseado nesta hipótese, está a ser antecipado o desenvolvimento de um inibidor contra γ -secretase, uma vacina e semelhantes, mas devido aos problemas de efeitos secundários adversos, a sua comercialização não foi ainda alcançada (Documento sem ser de Patente 3).

Como outra abordagem, baseada no relatório de dados epidemiológicos que mostram que pacientes que tomam um inibidor da HMG-CoA-redutase (daqui em diante pode também ser referido como uma estatina), que é um agente terapêutico para a hiperlipidemia, exibem uma baixa taxa de morbidade para demência de tipo Alzheimer (Documento sem ser de Patente 4), ou a descoberta de que as estatinas diminuem a produção de β -amilóide, uma possibilidade de utilização das estatinas como agente terapêutico para demência de tipo Alzheimer foi relatada (Documentos sem serem de Patente 1 a 8). Foi também relatado que as estatinas têm uma acção inibidora contra a formação de complexos activos de γ -secretase (Documento de Patente 9).

São verificados os seguintes relatórios em relação à acção dos fármacos acima mencionados na morte de células nervosas. Especificamente, sabe-se que o cloridrato de donepezil tem uma acção protectora contra a neurotoxicidade da β -amilóide ou do ácido glutâmico (Documentos sem serem de Patente 5 e 6), ou uma acção protectora das células nervosas num modelo de isquemia (Documento sem ser de Patente 7). No entanto, todos estes representam resultados obtidos *in vitro*, e uma vez que a concentração exibindo uma acção protectora dos nervos requer uma dose mais elevada que a concentração exibindo uma acção inibidora da acetilcolinesterase, não é certo se a acção protectora de células nervosas é manifestada em pacientes administrados com o fármaco ou não.

Além disso, no caso das estatinas, é relatado que uma estatina suprime um aumento no tamanho de enfarte cerebral num modelo animal de isquemia cerebral transitória (Documento sem ser de Patente 8), e sabe-se que uma estatina exibe uma acção protectora de células nervosas através de uma acção supressora da redução da superóxido-dismutase (Documento sem ser de Patente 9).

É também conhecido um relatório em que um inibidor de acetilcolinesterase tal como cloridrato de donepezil e uma estatina são combinados e aplicados a demência de tipo Alzheimer (Documento de Patente 10). No entanto, este documento não apresenta quaisquer dados específicos, e não é

certo especificamente qual a combinação de fármacos que seria ótima. Além disso, existem resultados clínicos conhecidos obtidos utilizando galantamina que é um inibidor da acetilcolinesterase, e uma estatina em combinação, e salienta-se que, no caso de tratamento combinado, o risco de efeitos secundários adversos é aumentado em comparação com o caso de tratamento com um único fármaco (Documento de Patente 11). No entanto, não está relatado que o cloridrato de donepezil tenha uma acção protectora dos nervos contra isquemia cerebral transiente.

Entre outras técnicas anteriores, WO 2007/088705 A1 divulga um remédio para diabéticos caracterizado por conter pitavastatina ou um derivado desta e enalapril ou um sal deste.

Entre outras técnicas anteriores, Miida *et al.*, *Pharmacol. Ther.*, 113: 378-393 resumem ensaios clínicos que examinam os efeitos preventivos da terapia com estatinas em acidente vascular cerebral e demência.

Além disso, Roman *et al.*, *European Neuropsychopharmacology*, 16(4): S481-S482, 2006 informam acerca da eficácia e segurança de donepezil em demência vascular discutindo os resultados do maior ensaio duplamente cego em pacientes com demência vascular.

Entre outras técnicas anteriores, Tounai *et al.*, *Metab. Brain. Dis.*, 22: 89-104, 2007 relatam o efeito da pitavastatina num estudo imuno-histoquímico sobre a distribuição de NF- κ B e p53 em hipocampo de gerbilo após isquemia cerebral transiente.

Além disso, Kumagai *et al.*, *J. Neural. Transm.* 111: 1103-1120, 2004 relatam que a pitavastatina como inibidor da 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA)-redutase reduz danos no hipocampo após isquemia cerebral transiente em gerbilos.

Tal como discutido até agora, ainda não existe um fármaco com uma acção satisfatoriamente eficaz inibidora da morte de células nervosas contra doenças demenciais incluindo

demência de tipo Alzheimer, e deseja-se proporcionar um tal fármaco. Além disso, um fármaco possuindo uma acção eficaz inibidora da morte de células nervosas é também útil como agente profiláctico contra a recorrência de enfarte cerebral, e portanto um agente profiláctico e/ou terapêutico para enfarte cerebral, além de doenças demenciais.

- [Documento de Patente 1] WO 02/062824
- [Documento de patente 2] WO 01/096311
- [Documento de Patente 3] WO 01/032161
- [Documento de patente 4] WO 00/028981
- [Documento de Patente 5] WO 99/048488
- [Documento de Patentes 6] USP No. 6472421
- [Documento de Patentes 7] USP No. 6440387
- [Documento de Patentes 8] USP No. 6080778
- [Documento de Patentes 9] WO 2005/063294
- [Documento de Patentes 10] WO 2005/099823
- [Documento de Patentes 11] WO 03/082298
- [Documento sem ser de Patente 1] *Science*, 219: 1184-1190, 1983
- [Documento sem ser de Patente 2] *Science*, 256: 184-185, 1992
- [Documento sem ser de Patente 3] *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 98: 9312-9317, 2001
- [Documento sem ser de Patente 4] *Arch. Neurol.*, 57: 1439-1443, 2000
- [Documento sem ser de Patente 5] *Neuroreport*, 9: 1519-1522, 1998
- [Documento sem ser de Patente 6] *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 306: 772-777, 2003
- [Documento sem ser de Patente 7] *Eur. J. Pharmacol.*, 472: 57-63, 2003
- [Documento sem ser de Patente 8] *Brain Research*, 1037: 52-58, 2005
- [Documento sem ser de Patente 9] *Therapeutic Research*, 26: 1277-1286, 2005

Divulgação do Invento

Problemas a Resolver pelo Invento

O presente invento é para proporcionar um fármaco exibindo uma excelente acção inibidora da morte de células nervosas.

Meios para Resolver os Problemas

Em tais circunstâncias, os inventores do presente invento realizaram devotamente investigações, e como resultado, descobriram surpreendentemente que quando uma pitavastatina tal como pitavastatina-cálcio, e donepezil ou um sal deste são utilizados em combinação, uma notável acção inibidora da morte de células nervosas específica desta combinação é obténível, completando assim o presente invento. Até agora, não houve qualquer relatório sobre qual o grau da acção inibidora da morte de células nervosas que seria manifestado num exemplo de combinação de pitavastatina e donepezil ou um sal deste.

Especificamente, o presente invento proporciona o seguinte:

(1) Um inibidor da morte de células nervosas compreendendo uma pitavastatina e donepezil ou um sal deste em combinação;

(2) O inibidor da morte de células nervosas de acordo com (1), em que a pitavastatina é pitavastatina-cálcio;

(3) O inibidor da morte de células nervosas de acordo com (1) ou (2), em que o sal de donepezil é cloridrato de donepezil;

(4) O inibidor da morte de células nervosas de acordo com qualquer um de (1) a (3), em que uma preparação contendo uma pitavastatina e uma preparação contendo donepezil ou um sal deste são utilizadas em combinação;

(6) O inibidor da morte de células nervosas de acordo com qualquer um de (1) a (4) para utilização como agente profiláctico e/ou terapêutico para uma doença demencial;

(7) O inibidor da morte de células nervosas para utilização de acordo com (6), em que o agente profiláctico

e/ou terapêutico para uma doença demencial é um inibidor de progressão para uma doença demencial;

(8) O inibidor da morte de células nervosas para utilização de acordo com (6) ou (7), em que a doença demencial é demência vascular ou demência degenerativa;

(9) O inibidor da morte de células nervosas para utilização de acordo com (8), em que a demência degenerativa é demência de tipo Alzheimer;

(10) O inibidor da morte de células nervosas para utilização de acordo com qualquer um de (1) a (4), em que o inibidor da morte de células nervosas é um agente profilático e/ou terapêutico para enfarte cerebral;

(11) O inibidor da morte de células nervosas para utilização de acordo com (10), em que o agente profilático e/ou terapêutico para enfarte cerebral é um agente profilático contra a recorrência de enfarte cerebral;

Além disso são aqui divulgados os seguintes aspectos:

(12) Uma composição farmacêutica contendo uma pitavastatina, donepezil ou um sal deste, e um transportador farmacêuticamente aceitável;

(13) A composição farmacêutica de acordo com (12) acima, em que a pitavastatina é pitavastatina-cálcio;

(14) A composição farmacêutica de acordo com (12) ou (13) acima, em que o sal de donepezil é cloridrato de donepezil;

(15) A composição farmacêutica de acordo com qualquer um de (12) a (14) acima, em que uma preparação contendo uma pitavastatina e uma preparação contendo donepezil ou um sal deste são administradas em combinação;

(16) A composição farmacêutica de acordo com qualquer um de (12) a (15) acima, em que a composição farmacêutica se destina à inibição da morte de células nervosas;

(17) A composição farmacêutica de acordo com qualquer um de (12) a (16) acima, em que a composição farmacêutica se destina à protecção dos nervos cerebrais;

(18) A composição farmacêutica de acordo com qualquer um de (12) a (17) acima, em que a composição farmacêutica se destina à prevenção e/ou tratamento de uma doença demencial;

(19) A composição farmacêutica de acordo com (18) acima, em que a prevenção e/ou tratamento de uma doença demencial é para inibir a progressão de uma doença demencial;

(20) A composição farmacêutica de acordo com (18) ou (19) acima, em que a doença demencial é demência vascular ou demência degenerativa;

(21) A composição farmacêutica de acordo com (20) acima, em que a demência degenerativa é demência de tipo Alzheimer;

(22) A composição farmacêutica de acordo com qualquer um de (12) a (15) acima, em que a composição farmacêutica se destina à prevenção e/ou tratamento de enfarte cerebral;

(23) A composição farmacêutica de acordo com (22) acima, em que a prevenção e/ou tratamento de enfarte cerebral se destina à prevenção de recorrência de enfarte cerebral;

(24) Utilização das composições acima mencionadas num método para inibição da morte de células nervosas num paciente, o método incluindo a administração ao paciente de uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica contendo uma pitavastatina, donepezil ou um sal deste, e um transportador farmacêuticamente aceitável, sendo a quantidade suficiente para inibir a morte de células nervosas;

(25) Utilização das composições acima mencionadas num método para protecção de nervos cerebrais num paciente, o método incluindo a administração ao paciente de uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica contendo uma pitavastatina, donepezil ou um sal deste, e um transportador farmacêuticamente aceitável, sendo a quantidade suficiente para proteger os nervos cerebrais;

(26) A utilização de acordo com (24) ou (25) acima, em que a pitavastatina é pitavastatina-cálcio;

(27) A utilização de acordo com qualquer um de (24) a (26) acima, em que o sal de donepezil é o cloridrato de donepezil;

(28) A utilização de acordo com qualquer um de (24) a (27) acima, em que uma preparação contendo uma pitavastatina e uma preparação contendo donepezil ou um sal deste são administradas em combinação;

(29) A utilização de acordo com qualquer um de (24) a (28) acima, em que a inibição da morte de células nervosas ou a protecção de nervos cerebrais se destina à prevenção e/ou tratamento de uma doença demencial;

(30) A utilização de acordo com (29) acima, em que a prevenção e/ou o tratamento de uma doença demencial é para inibir a progressão de uma doença demencial;

(31) A utilização de acordo com (29) ou (30) acima, em que a doença demencial é demência vascular ou demência degenerativa;

(32) A utilização de acordo com (31) acima, em que a demência degenerativa é demência de tipo Alzheimer;

(33) A utilização das composições acima mencionadas num método para prevenção e/ou tratamento de enfarte cerebral num paciente, o método incluindo a administração ao paciente de uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica contendo uma pitavastatina, donepezil ou um sal deste, e um transportador farmaceuticamente aceitável, sendo a quantidade suficiente para prevenção e/ou tratamento de enfarte cerebral;

(34) A utilização de acordo com (33) acima, em que a prevenção e/ou tratamento de enfarte cerebral é a prevenção da recorrência de enfarte cerebral;

(35) Utilização de uma combinação de uma pitavastatina e donepezil ou um sal deste, para o fabrico de um inibidor da morte de células nervosas;

(36) Utilização de uma combinação de uma pitavastatina e donepezil ou um sal deste, para o fabrico de um agente protector dos nervos cerebrais;

(37) A utilização de acordo com (35) ou (36) acima, em que a pitavastatina é pitavastatina-cálcio;

(38) A utilização de acordo com qualquer um de (35) a (37) acima, em que o sal de donepezil é cloridrato de donepezil;

(39) A utilização de acordo com qualquer um de (35) a (38) acima, em que a utilização de uma combinação de uma pitavastatina e donepezil ou um sal deste é para a utilização de uma preparação contendo uma pitavastatina e uma preparação contendo donepezil ou um sal deste em combinação;

(40) A utilização de acordo com qualquer um de (35) a (39) acima, em que o inibidor da morte de células nervosas ou agente protector dos nervos cerebrais se destina à prevenção e/ou tratamento de uma doença demencial;

(41) A utilização de acordo com (40) acima, em que a prevenção e/ou tratamento de uma doença demencial é para inibir a progressão de uma doença demencial;

(42) A utilização de acordo com (40) ou (41) acima, em que a doença demencial é demência vascular ou demência degenerativa;

(43) A utilização de acordo com (42) acima, em que a demência degenerativa é demência de tipo Alzheimer;

(44) A utilização de uma combinação de uma pitavastatina e donepezil ou um sal deste, para o fabrico de um agente profiláctico e/ou agente terapêutico para enfarte cerebral; e

(45) A utilização de acordo com (44) acima, em que o agente preventivo e/ou agente terapêutico para enfarte cerebral se destina à prevenção de recorrência de enfarte cerebral.

Efeitos do Invento

De acordo com o presente invento, pode ser proporcionado um inibidor da morte de células nervosas exibindo uma excelente acção inibidora da morte de células nervosas, e pode ser proporcionado um agente protector dos nervos cerebrais, um inibidor da progressão para uma doença demencial, um agente profiláctico e/ou terapêutico para uma doença demencial, um agente profiláctico contra a recorrência de enfarte cerebral, e um agente profiláctico e/ou terapêutico para enfarte cerebral.

Breve Descrição dos Desenhos

A Fig. 1 é um gráfico mostrando os efeitos de administrações individuais ou da administração combinada de pitavastatina e Aricept (cloridrato de donepezil) na morte de células nervosas.

A Fig. 2 é um gráfico mostrando os efeitos de administrações individuais ou da administração combinada de simvastatina e Aricept (cloridrato de donepezil) na morte de células nervosas.

Melhor Modo de Realização do Invento

As pitavastatinas utilizadas no presente invento incluem pitavastatina e um sal desta, e um derivado de lactona do composto ou do sal, e também um solvato destes com um solvente que seja aceitável como produto farmacêutico, tal como um hidrato do composto, do sal ou dos derivado de lactona. As pitavastatinas têm uma actividade inibidora da

síntese de colesterol baseada na acção inibidora da HMG-CoA-redutase, e são conhecidas como agentes terapêuticos para hiperlipidemia. Exemplos do sal de pitavastatina incluem sais de metais alcali tais como sal de sódio e sal de potássio; sais de metais de terra alcalina, tais como sal de cálcio e sal de magnésio; sais orgânicos de aminas, tais como sal de fenetilamina ou sais de amónio e semelhantes. Entre estes, como para a pitavastatina, é preferido um sal de pitavastatina, e são particularmente preferidos um sal de cálcio e um sal de sódio.

Uma pitavastatina pode ser produzida através dos métodos descritos na Patente U.S. No. 5856336 e JP-A No. 1-279866.

O donepezil ou um sal deste utilizado no presente invento é conhecido como um agente terapêutico para demência de tipo Alzheimer com base na acção inibidora da acetilcolinesterase, e o cloridrato de donepezil pode ser facilmente produzido através de um método conhecido, por exemplo, um método divulgado em JP-A No. 1-79151, JP-A No. 07-252216, JP-A No. 11-263774, JP-A No. 11-171861, ou semelhante. O cloridrato de donepezil pode ser facilmente obtido como um produto disponível comercialmente (nome comercial "Aricept"). O sal de donepezil não está particularmente limitado desde que seja um sal farmaceuticamente aceitável, e exemplos seus incluem sais de ácidos inorgânicos tais como cloridrato, sulfato, nitrato, bromidrato e fosfato; sais de ácidos orgânicos tais como acetato, trifluoroacetato, fumarato, maleato, lactato, tartarato, citrato, succinato, malonato, metanossulfonato e p-toluenossulfonato; e semelhantes. Entre estes, é preferido o cloridrato.

O presente invento envolve um inibidor da morte de células nervosas compreendendo uma pitavastatina e donepezil ou um sal deste em combinação. Tal como mostrado nos Exemplos que serão descritos posteriormente, num modelo de rato para revascularização de oclusão da artéria vertebral-carótida (isquemia de 4 pontos), quando uma pitavastatina e donepezil ou um sal deste foram utilizados em combinação, a morte de células nervosas na região CA1 do hipocampo foi significativamente inibida, e foi exibida uma acentuada acção

inibidora da morte de células nervosas, em comparação com o caso em que os dois fármacos foram cada um administrados individualmente. Portanto, o medicamento do presente invento é útil como um inibidor da morte de células nervosas. O inibidor da morte de células nervosas do presente invento é ainda útil como agente protector dos nervos cerebrais, um inibidor de progressão para uma doença demencial, um agente profiláctico e/ou terapêutico para uma doença demencial, um agente profiláctico contra a recorrência de enfarte cerebral, e um agente profiláctico e/ou terapêutico para enfarte cerebral. Exemplos da doença demencial incluem demências vasculares tais como demência multi-enfarte de tipo isquemia prolongada (incluindo leucoencefalopatia de tipo Binswanger), tipo enfarte cerebral múltiplo, tipo enfarte cerebral focal e demência vascular hereditária (CADASIL, ou semelhantes); e demências degenerativas tais como demência de tipo Alzheimer (doença de Alzheimer (DA) ou demência senil de tipo Alzheimer (SDAT)), degeneração do lobo frontotemporal (demência frontotemporal; FTD, doença de Pick, ou semelhantes), demência de tipo corpo de Lewy (doença difusa do corpo de Lewy (DLBD) ou semelhantes), doença de Parkinson (DP) com demência, demência senil de tipo variação neurofibrilhar, demência granular argentafínica, doença de Huntington, paralisia supranuclear progressiva, e degeneração ganglionar corticobasal; bem como doença de Creutzfeldt-Jakob, demência associada a HIV, e semelhantes. Entre estas doenças demenciais, o inibidor da morte de células nervosas do presente invento é particularmente útil como inibidor da progressão para demência de tipo Alzheimer, ou um agente profiláctico e/ou terapêutico para demência de tipo Alzheimer.

A forma de dosagem do medicamento ou composição farmacêutica utilizada não está particularmente limitada, e pode ser adequadamente seleccionada de acordo com o objectivo terapêutico. Exemplos da forma de dosagem incluem administração oral por meio de comprimidos, cápsulas, grânulos, comprimidos revestidos por película, pós, xaropes ou semelhantes, e administração parentérica por meio de preparações injectáveis, supositórios, inalantes, emplastros de absorção transdérmica, gotas para os olhos, gotas nasais

ou semelhantes. No entanto, geralmente, a administração oral é preferida.

No caso de se preparar uma preparação sólida oral, comprimidos, grânulos, pós, cápsulas ou semelhantes podem ser produzidos através de um método padrão, após a adição de um excipiente, e, se necessário, um agente aglomerante, um desintegrante, um agente lubrificante, um corante, um agente aromatizante, uma fragrância e semelhantes. Como tais aditivos, os geralmente utilizados na técnica pertinente podem ser utilizados, e exemplos destes incluem, como excipiente, lactose, cloreto de sódio, glicose, amido, celulose microcristalina, ácido silícico, e semelhantes; como agente aglomerante, água, etanol, propanol, xarope simples, solução de gelatina, hidroxipropilcelulose, metilcelulose, etilcelulose, goma-laca, fosfato de cálcio, polivinilpirrolidona, e semelhantes; como desintegrante, agar em pó, hidrogenocarbonato de sódio, laurilsulfato de sódio, monoglicérido de ácido esteárico, e semelhantes; como agente lubrificante, talco purificado, sais de ácido esteárico, bórax, polietilenoglicol, e semelhantes; como corante, β -caroteno, sesquióxido de ferro amarelo, caramelo, e semelhantes; e como agente aromatizante, sacarose, casca de laranja, e semelhantes.

No caso de se preparar uma preparação líquida oral, uma preparação líquida interna, um xarope, um elixir ou semelhante pode ser preparado através de um método padrão, adição de um agente aromatizante, um agente tampão, um estabilizante, um conservante e semelhantes. Como tais aditivos, os geralmente utilizados na técnica pertinente podem ser utilizados, e exemplos destes incluem, como agente aromatizante sacarose, e semelhantes; como agente de tamponamento, citrato de sódio e semelhantes; como estabilizante, tragacanto e semelhantes; e como conservante, éster de ácido paraoxibenzóico e semelhantes.

No caso de se preparar uma preparação injectável, uma preparação injectável transdérmica, intramuscular ou intravenosa pode ser produzida através de um método padrão, adição de um agente de ajuste de pH, um estabilizante, um agente isotónico e semelhantes. Como tais aditivos, os

geralmente utilizados na técnica pertinente podem ser utilizados, e exemplos destes incluem, como agente para ajuste do pH, fosfato de sódio e semelhantes; como estabilizante, pirossulfito de sódio e semelhantes; e como agente isotônico, cloreto de sódio, e semelhantes.

Em relação à forma de utilização, o inibidor da morte de células nervosas do presente invento utiliza pitavastatina e donepezil ou um sal deste, em combinação, e pode ser utilizado como um inibidor da morte de células nervosas que é sinérgico em resultado da administração dos dois fármacos, e na forma capaz de obter os efeitos de protecção dos nervos cerebrais, inibindo a progressão de demência de tipo Alzheimer, prevenindo e/ou tratando demência de tipo Alzheimer, prevenindo a recorrência de enfarte cerebral, e prevenindo e/ou tratando enfarte cerebral, sem estar limitado a estas formas de utilização. A pitavastatina e o donepezil ou um sal deste podem ser administrados simultaneamente, ou também podem ser administrados separadamente, com um intervalo. Isto é, tal como para a pitavastatina e donepezil ou um sal deste, os dois fármacos podem ser formulados numa preparação única, ou os dois fármacos podem ser formulados em preparações separadas e utilizados como um conjunto (estojo).

No caso de administração dos dois fármacos numa preparação única, a razão de mistura de uma pitavastatina e donepezil ou um sal deste está, de preferência, no intervalo de 1:0,005 a 1:500, e de maior preferência no intervalo de 1:0,1 a 1:10, do ponto de vista da obtenção de um efeito sinérgico particularmente excelente.

Além disso, de acordo com o presente invento, no caso da formulação dos dois fármacos em formulações separadas, a preparação contendo uma pitavastatina pode ser proporcionada como um inibidor da morte de células nervosas que é administrado em combinação com donepezil ou um sal deste, e pode também ser utilizado como um agente protector dos nervos cerebrais, um inibidor de progressão de uma doença demencial, um agente profiláctico e/ou terapêutico para uma doença demencial, um agente profiláctico contra a recorrência de enfarte cerebral, ou um agente profiláctico e/ou terapêutico para enfarte cerebral, que é administrado em combinação com

donepezil ou um sal deste. Por outro lado, a preparação contendo donepezil ou um sal deste, é proporcionada como um inibidor da morte de células nervosas que é administrado em combinação com uma pitavastatina, e pode também ser utilizado como um agente protector dos nervos cerebrais, um inibidor de progressão de uma doença demencial, um agente profiláctico e/ou terapêutico para uma doença demencial, um agente profiláctico contra a recorrência de enfarte cerebral, ou um agente profiláctico e/ou terapêutico para enfarte cerebral, que é administrado em combinação com uma pitavastatina. As formas de dosagem dos dois fármacos podem ser idênticas ou podem ser diferentes. O número de administrações dos respectivos componentes pode também ser diferente.

A dosagem de pitavastatina podem ser adequadamente seleccionada de acordo com o peso corporal, a idade, o sexo, sintomas e semelhantes do paciente, e, geralmente, no caso de um adulto, podem ser administrados 0,01 a 50 mg, de preferência 0,1 a 20 mg, e de maior preferência 1 a 10 mg, por dia. Além disso, a dosagem de donepezil ou um sal deste pode ser aumentada ou diminuída dependendo dos sintomas, e, no caso de um adulto, podem ser administrados 0,01 a 100 mg, de preferência 0,1 a 50 mg, e de maior preferência 1 a 10 mg, por dia. A administração pode ser efectuada uma vez, ou duas ou mais em porções divididas em um dia.

Toda a descrição no fascículo do Pedido de Patente Japonesa No. 2007-259682, que é o pedido de base do presente pedido, foi incorporada no presente fascículo. Além disso, no presente fascículo, a expressão "imbecilidade" no fascículo do pedido de base foi corrigida para "demência" de acordo com o termo corrente.

Daqui em diante, o presente invento será ainda descrito por meio de exemplos, mas não se pretende que o presente invento esteja limitado a estes Exemplos.

EXEMPLO 1

Os efeitos da administração combinada de pitavastatina-cálcio (daqui em diante, descrita como pitavastatina) e cloridrato de donepezil (daqui em diante, descrito sob o nome

comercial Aricept) sobre a morte de células nervosas na região CA1 do hipocampo num modelo de rato para revascularização de oclusão da artéria vertebral-carótida (isquemia de 4 pontos), foram avaliados de acordo com os seguintes métodos de ensaio.

1. Animal de teste e ambiente de criação

Foram obtidos ratos Crlj:WI machos de sete semanas de idade (Charles River Laboratories Japan Inc.) e foram proporcionados para a experiência após serem sujeitos a quarentena (durante 5 dias) e aclimatização (durante 7 dias ou mais). Durante todo o período de experimentação, os ratos foram criados numa câmara de reprodução mantida sob um ciclo de luz-escurecimento (período de luz sob a luz da sala: 6:00 às 18:00), a uma temperatura de $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ e uma humidade de $55\pm 15\%$, e foi-lhes permitido tomar livremente alimento sólido (CRF-1; Oriental Yeast Co., LTD.) e água de beber (água da torneira).

2. Preparação da solução

A pitavastatina e o Aricept foram cada um suspensos numa solução aquosa a 0,5% (p/v) de carboximetilcelulose de sódio (daqui em diante, CMC-Na, Sigma), e preparada imediatamente antes da utilização tal que a quantidade de administração fosse 5 ml/kg.

3. Método de ensaio

Os ratos foram divididos em 5 grupos (6 amostras em cada grupo) para que os pesos corporais médios fossem quase uniformes e foram agrupados em (1) grupo normal (grupo não tratado), (2) grupo de controlo de solvente, (3) grupo de administração única de pitavastatina (3 mg/kg), (4) grupo de administração única de Aricept (0,5 mg/kg), e (5) grupo de administração combinada de pitavastatina (3 mg/kg) e Aricept (0,5 mg/kg).

O dia de agrupamento foi contado como o primeiro dia de administração, e o fármaco de teste foi administrado oralmente uma vez por dia durante 6 dias, assim 6 vezes no

total. O grupo normal e o grupo de controlo de solvente foram administrados com uma solução aquosa a 0,5% (p/v) de CMC-Na.

No quinto dia de administração, 35 mg/kg de pentobarbital de sódio (solução injectável de Nembutal (marca registada), Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.) foram administrados intraperitonealmente aos ratos excluindo os do grupo normal. Os forâmens alares direito e esquerdo foram expostos a partir da primeira parte da coluna cervical sob anestesia, e as artérias vertebrais foram termicamente solidificadas utilizando um ferro de soldar, de modo a obstruir permanentemente as artérias vertebrais de ambos os lados. Subsequentemente, as artérias carótidas comuns de ambos os lados foram expostas e descascadas, e foi inserido e suturado um tubo de silicone de forma circular.

No sexto dia de administração, enquanto os ratos excluindo os do grupo normal eram anestesiados com éter dietílico, as artérias carótidas comuns de ambos os lados foram expostas através do tubo de silicone inserido, e temporariamente obstruídas durante 10 minutos, utilizando um clipe Sugita (Mizuho Ikakogyo Co., Ltd.), e a pele foi suturada.

No quinto dia após a oclusão e revascularização das artérias carótidas comuns de ambos os lados (para o grupo normal, quinto dia após a administração final), os ratos que tinham sido anestesiados através de um método padrão foram submetidos a fixação de perfusão utilizando paraformaldeído a 4% (pH 7,4) e em seguida com fluido de Bouin (pH 3,5 a 4,0), e os cérebros foram extraídos. Os cérebros fixados foram desidratados, infiltrados e impregnados em parafina, e uma secção possuindo uma espessura de 10 µm foi produzida a partir da vizinhança de Bregma -3,3 mm. Posteriormente, a secção foi corada com Nissle, e a região CA1 do hipocampo do lado direito foi fotografada num microscópio óptico. O número de células nervosas foi contado utilizando um analisador de imagem (Win Roof V5.6, Mitani Corporation), e foi medido o comprimento de CA1.

4. Processamento de dados e análise estatística

De acordo com a seguinte fórmula, foi determinado o número de células nervosas por unidade de comprimento, e foi calculado o valor médio e o desvio padrão para cada grupo.

$$\text{Número de células nervosas de CA1 do hipocampo (células/mm)} = \frac{\text{Número de células nervosas de CA1 (células)}}{\text{unidade de comprimento (comprimento no local de medição: mm)}}$$

Para o teste de diferenças significativas, foi efectuado um teste t de Student entre o grupo (1) e o grupo (2), e o teste de comparações múltiplas de Dunnett foi efectuado entre o grupo (2) e (3), (4) ou (5). Quanto ao nível de significância, uma taxa de risco de menos de 5% foi considerada significativa em todos os testes, e o nível de significância foi expresso em separado para o caso de menos de 5% ($p < 0,05$) e o caso de menos de 1% ($p < 0,01$).

Os resultados são apresentados na Fig. 1. O eixo vertical na Fig. 1 representa o número de células nervosas (células/mm). Na Fig. 1, o símbolo ## indica que existia uma diferença significativa a $p < 0,01$, enquanto que o símbolo * indica que existia uma diferença significativa a $p < 0,05$. Tal como mostrado na Fig. 1, o número de células nervosas na região CA1 do hipocampo no grupo de controlo de solvente foi reconhecido como tendo diminuído significativamente em comparação com o grupo normal.

Uma tendência de aumento no número de células nervosas foi mostrada no grupo de administração única de pitavastatina a 3 mg/kg e no grupo de administração única de Aricept a 0,5 mg/kg em relação ao grupo de controlo de solvente, mas o resultado não foi significativo. No grupo de administração única de pitavastatina a 3 mg/kg, embora não houvesse um relatório da presença de uma diferença significativa (ver Documento sem ser de Patente 9), não pôde ser verificada uma diferença significativa em tal método duro tal como no método experimental do presente invento como descrito acima.

Pelo contrário, no grupo de administração combinada de 3 mg/kg de pitavastatina e 0,5 mg/kg de Aricept, foi reconhecido um aumento significativo no número de células nervosas na região CA1 do hipocampo em comparação com o grupo de controlo de solvente, e foi confirmada a notável acção e os efeitos do presente invento em que os dois fármacos são utilizados em combinação.

EXEMPLO COMPARATIVO 1

Com o objectivo de verificar a acção de uma outra estatina que não pitavastatina, o teste foi realizado da mesma maneira utilizando simvastatina. Isto é, o animal de teste e o ambiente de criação, a preparação da solução, método de ensaio, processamento de dados e análise estatística foram todos realizados sob as mesmas condições que no Exemplo 1, excepto que foi utilizada sinvastatina (15 mg/kg) em vez de pitavastatina. Portanto, foram utilizados cinco grupos de (1) grupo normal (grupo não tratado), (2) grupo de controlo de solvente, (3) grupo de administração única de simvastatina (15 mg/kg), (4) grupo de administração única de Aricept (0,5 mg/kg), e (5) grupo de administração combinada de simvastatina (15 mg/kg) e Aricept (0,5 mg/kg) (6 a 9 amostras em cada grupo).

A simvastatina foi adquirida em Zhejiang Kangyu Pharmaceutical Co., Ltd. (China) e proporcionada para a experiência.

Os resultados são apresentados na Fig. 2. O eixo vertical na Fig. 2 representa o número de células nervosas (células/mm). Na Fig. 2, o símbolo ** indica que existia uma diferença significativa de $p < 0,01$. Tal como mostrado na Fig. 2, foi reconhecido que o número de células nervosas na região CA1 do hipocampo no grupo de controlo de solvente diminuiu significativamente em comparação com o grupo normal.

Foi mostrada uma tendência de aumento no número de células nervosas no grupo de administração única de simvastatina a 15 mg/kg e no grupo de administração única de Aricept a 0,5 mg/kg em relação ao grupo de controlo de solvente, mas o resultado não foi significativo. Além disso,

no grupo de administração combinada de simvastatina a 15 mg/kg e Aricept a 0,5 mg/kg, embora uma tendência de aumento no número de células nervosas na região CA1 do hipocampo fosse também reconhecida em comparação com o grupo de controlo de solvente, a extensão do aumento foi menor do que os respectivos casos de administração única, e a acção e os efeitos da utilização dos dois fármacos em combinação não pôde ser confirmada.

Aplicabilidade Industrial

O presente invento é para proporcionar um inibidor da morte de células nervosas que exhibe uma excelente acção inibidora da morte de células nervosas mesmo sob condições extremamente duras tais como aquelas num modelo de rato para revascularização de oclusão da artéria vertebral-carótida (isquemia de quatro pontos), e o invento pode ser utilizado para proporcionar um medicamento útil como agente protector dos nervos cerebrais, inibidor de progressão de uma doença demencial, um agente profiláctico e/ou terapêutico para uma doença demencial, um agente profiláctico contra a recorrência de enfarte cerebral, e um agente profiláctico e/ou terapêutico para enfarte cerebral. Assim, o presente invento tem aplicabilidade industrial na indústria farmacêutica.

Lisboa, 2012-09-24

REIVINDICAÇÕES

1. Inibidor da morte de células nervosas compreendendo uma pitavastatina e Donepezil ou um sal deste em combinação.

2. Inibidor da morte de células nervosas de acordo com a reivindicação 1, em que a pitavastatina é pitavastatina-cálcio.

3. Inibidor da morte de células nervosas de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o sal de Donepezil é cloridrato de Donepezil.

4. Inibidor da morte de células nervosas de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, em que uma preparação contendo pitavastatina e uma preparação contendo Donepezil ou um sal deste são utilizadas em combinação.

5. Inibidor da morte de células nervosas de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 para utilização como agente profilático e/ou terapêutico para uma doença demencial.

6. Inibidor da morte de células nervosas para utilização de acordo com a reivindicação 5, em que o agente profilático e/ou terapêutico para uma doença demencial é um inibidor de progressão para uma doença demencial.

7. Inibidor da morte de células nervosas para utilização de acordo com a reivindicação 5 ou 6, em que a doença demencial é demência vascular ou demência degenerativa.

8. Inibidor da morte de células nervosas para utilização de acordo com a reivindicação 7, em que a demência degenerativa é demência de tipo Alzheimer.

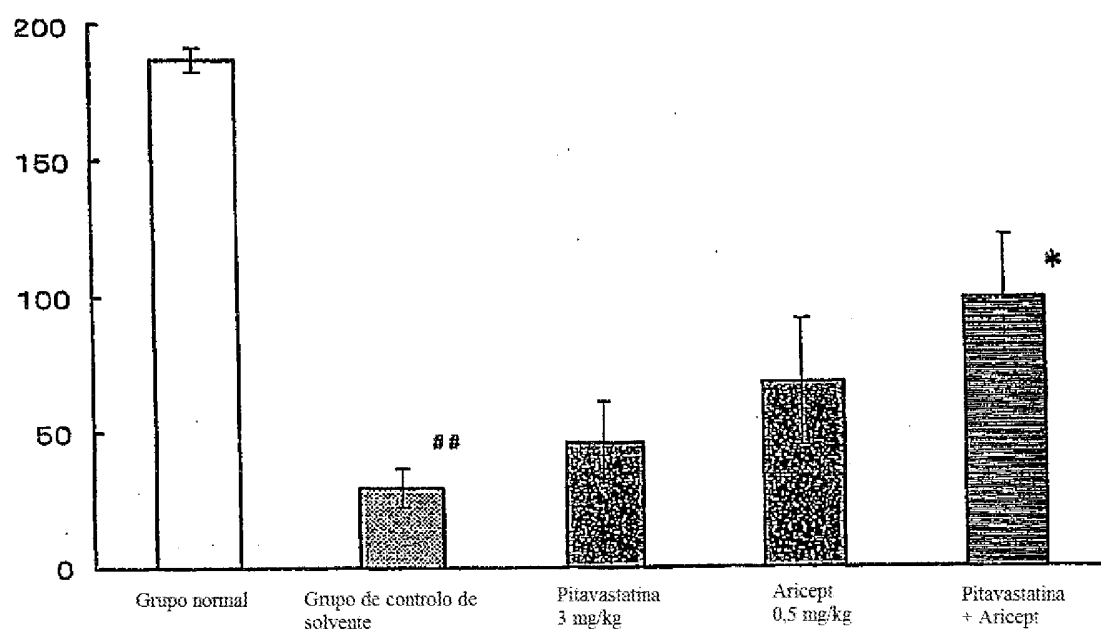
9. Inibidor da morte de células nervosas de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 para utilização como agente profilático e/ou terapêutico para enfarte cerebral.

10. Inibidor da morte de células nervosas de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 para utilização de acordo com a reivindicação 9, em que o agente profilático e/ou terapêutico para enfarte cerebral é um agente profilático contra a recorrência de enfarte cerebral.

Lisboa, 2012-09-24

FIG. 1

Número de células nervosas
(células/mm)



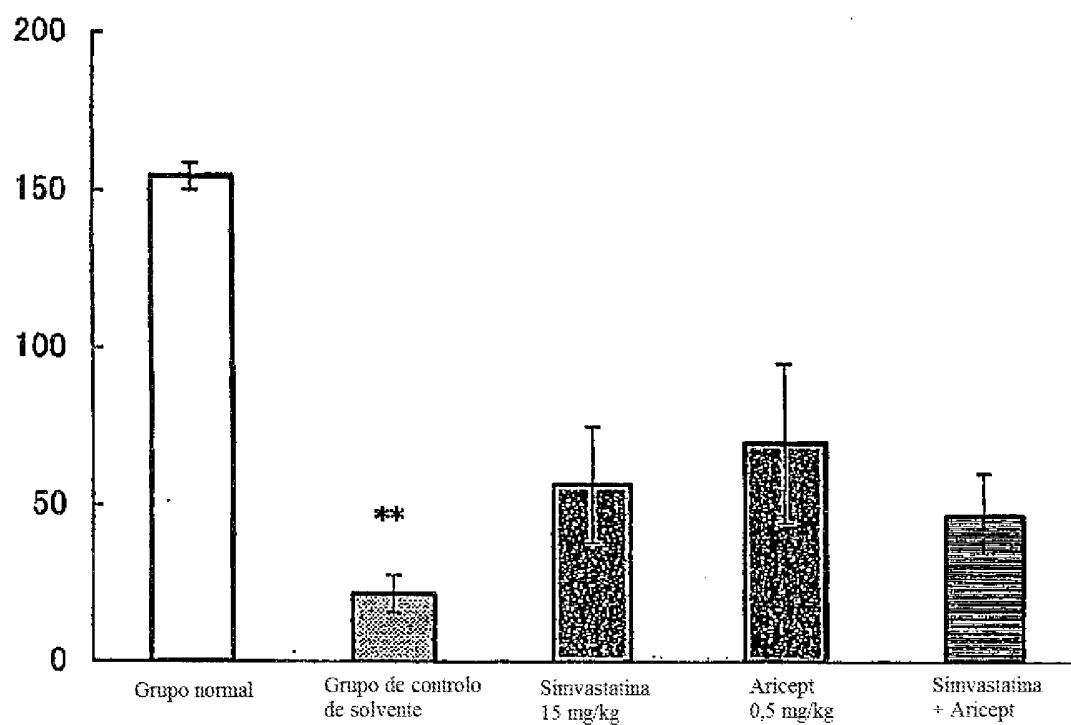
Valor médio $\pm$ erro padrão $n = 6$,

##: $p < 0,01$ Existe uma diferença significativa em relação ao grupo normal (teste t de Student)

*: $p < 0,05$ Existe uma diferença significativa em relação ao grupo de controlo de solvente (teste t de Dunnett)

FIG. 2

Número de células nervosas
(células/mm)



Valor médio $\pm$ erro padrão $n = 6-9$,

##: $p < 0,01$ Existe uma diferença significativa em relação ao grupo normal (teste t de Student)