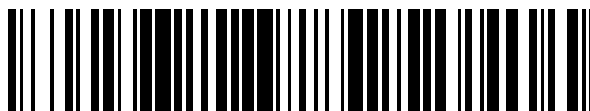


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 386 094**

51 Int. Cl.:
C07D 491/107 (2006.01)
A61K 31/4166 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A01K 67/00 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
G01N 33/15 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05704239 .2**
96 Fecha de presentación: **28.01.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1719774**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.11.2006**

54 Título: **Agente terapéutico para el edema macular diabético**

30 Prioridad:
30.01.2004 JP 2004022547

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
08.08.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
08.08.2012

73 Titular/es:
SANWA KAGAKU KENKYUSHO CO., LTD.
35, HIGASHI SOTOBORI-CHO, HIGASHI-KU
NAGOYA-SHI, AICHI 461-8631, JP

72 Inventor/es:
KATO, Noriaki;
NAGANO, Hiroshi;
TANIKO, Kaori y
JOMORI, Takahito

74 Agente/Representante:
Ponti Sales, Adelaida

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).

ES 2 386 094 T3

DESCRIPCIÓN

Agente terapéutico para el edema macular diabético.

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

1. Campo de la invención

10 **[0001]** La presente invención se refiere al nuevo uso de un derivado de hidantoína, en especial, (2S,4S)-6-fluoro-2',5'-dioxospiro [croman-4,4'-imidazolidin]-2-carboxamida como preparación farmacéutica.

2. Descripción de la técnica relacionada

15 **[0002]** El número de pacientes con diabetes mellitus como enfermedad relacionada con el estilo de vida está aumentado y en una encuesta sobre diabetes mellitus en 2002 realizada por el Ministerio de Sanidad, Trabajo y Bienestar, se estimó que el número de pacientes con diabetes mellitus en Japón era de 7,4 millones. En un estudio epidemiológico reciente en 913 casos de diabetes mellitus no dependiente de insulina, aproximadamente el 8% (aproximadamente 600.000 pacientes) de los pacientes con diabetes mellitus notificaron presentar maculopatía. Se estima que puesto que el número de pacientes con diabetes mellitus está aumentado, también aumenta el número de pacientes con maculopatía diabética.

25 **[0003]** La maculopatía diabética, junto con la retinopatía diabética, se considera como una de las enfermedades retinianas importantes en pacientes con diabetes mellitus. Las maculopatías diabéticas se clasifican en edema macular, maculopatía isquémica, epitelopatía pigmentaria retiniana y tracción macular. El objeto del tratamiento de la retinopatía diabética es prevenir la ceguera (pérdida de agudeza visual), mientras que el objetivo del tratamiento de la maculopatía diabética es prevenir y mejorar el deterioro de la agudeza visual. La mácula lútea tiene una forma significativamente diferente en cada retina por lo que se consigue una alta agudeza visual central (agudeza más nítida y alta) y tiene una estructura especial (ausencia de una capa plexiforme interna y una capa nuclear interna) con extremadamente menos tejidos distintos a las células visuales. Por consiguiente, el deterioro clínicamente problemático de la agudeza visual es debido a maculopatía. El desarrollo de fotocoagulación y vitrectomía permite que la ceguera atribuible a la retinopatía sea al menos previsible, aunque no es satisfactorio para la maculopatía, por lo que en estos casos es necesario un tratamiento para la maculopatía diferente al de la retinopatía. Esto también es importante a la vista del tratamiento de no pocos pacientes que solo presentan maculopatía sin tener retinopatía. Especialmente, el aumento reciente de la panfotocoagulación para la retinopatía diabética se estima que empeora el edema macular en la maculopatía diabética, causando un deterioro adicional de la agudeza visual. Por consiguiente, el punto principal del tratamiento es el cambio hacia una mejora en la calidad de vida (CDV) de los pacientes mediante el mantenimiento y la mejora de la agudeza visual.

40 **[0004]** El edema macular causado por la rotura de la barrera hematorretiniana de la retina en una célula endotelial vascular retiniana o una célula del epitelio pigmentario retiniano representa aproximadamente el 90% de las maculopatías y es una causa principal del deterioro de la agudeza visual en la maculopatía. Este deterioro de la agudeza visual no produce ceguera aunque causa deterioro extremo de la agudeza visual denominada ceguera social, que dificulta la vida cotidiana. Por otro lado, se aumenta la vida media debido al avance de la tecnología médica y, por tanto, este deterioro de la agudeza visual es un problema grave que no puede descuidarse en consideración de la CDV. Entre los principales tratamientos para prevenir o mejorar el deterioro de la agudeza visual se incluyen la fotocoagulación, la vitrectomía y la quimioterapia. En las circunstancias actuales, se está estudiando la eficacia de la fotocoagulación y la vitrectomía en un estudio clínico y aún no se ha establecido su eficacia y seguridad para el edema macular. Hay casos en los que se producen complicaciones del glaucoma neovascular y un empeoramiento del edema y, por tanto, existe un deseo serio de que aparezca una quimioterapia eficaz y segura. En la quimioterapia actual, se usan esteroides e inhibidores de la carbonato deshidratasa con acción antiinflamatoria como principal eficacia en el tratamiento sintomático, aunque no se ha establecido su eficacia y su administración durante un periodo de tiempo largo hace que aparezcan efectos secundarios y, por tanto, es difícil su uso continuo en enfermedades crónicas como la diabetes mellitus en las circunstancias actuales.

55 **[0005]** La (2S,4S)-6-fluoro-2',5'-dioxospiro [croman-4,4'-imidazolidin]-2-carboxamida (denominada a partir de ahora SNK-860), encontrada por el actual solicitante, se desarrolló como compuesto que tiene una fuente actividad inhibitoria sobre la aldosa reductasa y es muy segura incluso cuando se administra durante un periodo prolongado y, por tanto, en la actualidad se están avanzando a nivel mundial su uso como agente terapéutico.

60 **[0006]** Con respecto a los derivados de hidantoína incluyendo SNK-860, el uso de los mismos para la neuropatía diabética se describe en el documento JP-A 61-20091 (1986), el uso de los mismos para enfermedades en órganos circulatorios en el documento JP-A 04-173791 (1992), el uso de los mismos para diversas enfermedades que acompañan al envejecimiento en el documento JP-A 06-135986 (1994), el uso de los mismos para la retinopatía diabética simple en el documento JP-A 07-242547 (1995) y el uso de los mismos para la queratopatía diabética en el documento JP-A 08-231549 (1996). Sin embargo, no se ha notificado la eficacia de los derivados de hidantoína para la maculopatía diabética.

[0007] Como se describe anteriormente, el establecimiento de un tratamiento eficaz y muy seguro para la maculopatía diabética es muy deseable en el campo médico. En las circunstancias actuales, es muy deseable la llegada de una quimioterapia muy segura que permite la administración durante un periodo prolongado debido al problema de seguridad en el tratamiento mediante a intervención oftalmológica. Sin embargo, incluso hasta el momento no hay un modelo para la evaluación experimental de la maculopatía diabética, que es importante para el desarrollo de estos agentes terapéuticos, y el establecimiento de un modelo experimental para el desarrollo de preparaciones farmacéuticas es una tarea urgente.

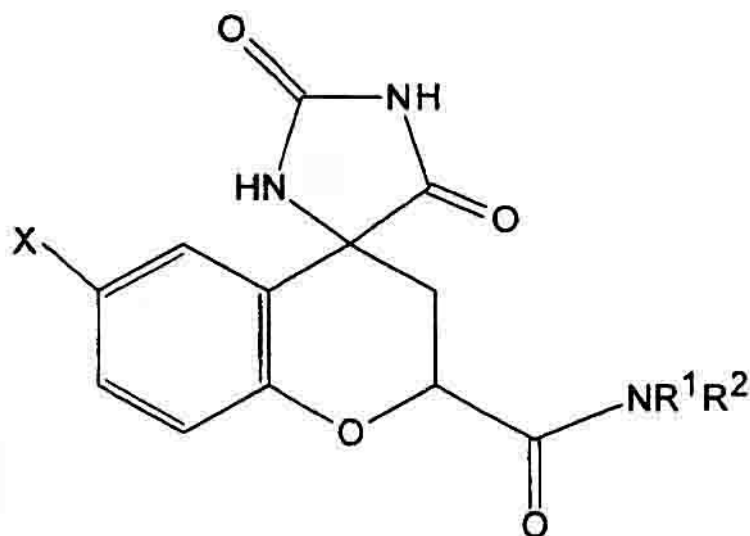
RESUMEN DE LA INVENCION

[0008] La presente invención se ha hecho considerando los antecedentes descritos anteriormente, y es un objeto de la presente invención proporcionar un agente profiláctico o terapéutico para el edema macular diabético, que puede administrarse durante un periodo prolongado y muestra eficacia en un mecanismo diferente de los medicamentos existentes, así como un modelo animal experimental que puede usarse en la evaluación de medicamentos para la maculopatía diabética.

[0009] Los presentes inventores deberán establecer en primer lugar un modelo experimental en animales para la maculopatía diabética. Es decir, los simplicitata, como las ratas, no tienen mácula lútea y no se ha notificado edema en ningún lugar fuera de la retina, como la capa de células visuales, es decir, en el lugar correspondiente a la mácula lútea, y tampoco se ha notificado si su intensidad aumenta o disminuye debido a la diabetes mellitus. Por consiguiente, los presentes inventores estudiaron esta enfermedad usando un animal y, como resultado, encontramos que cuando se permitía a una rata diabética estar en un estado de isquemia intraocular y, a continuación, se sometía a reperusión, el edema se expresaba en una capa de células visuales. En este modelo experimental, se sugiere que un aumento en el estrés oxidativo, como una producción excesiva de radicales libres que se produce en el ojo por isquemia y reperusión, promueve la permeabilidad vascular rompiendo la barrera hematorretiniana interna (barrera que regula la transferencia de una sustancia de un vaso sanguíneo retiniano al exterior del vaso sanguíneo) y una barrera hematorretiniana externa (barrera que regula la transferencia de una sustancia del corioide a la retina). Por consiguiente, se estima que el edema se expresaba por esta promoción de la permeabilidad vascular además de la promoción de la permeabilidad vascular retiniana debido a la diabetes mellitus. Por tanto, el presente modelo que expresa el edema en la capa de células visuales tiene un mecanismo de inicio muy similar al del edema macular en la maculopatía diabética humana y puede decirse que es un modelo adecuado para la evaluación de la maculopatía diabética.

[0010] A continuación, los presentes inventores examinaron si el edema se expresaba o no en una mácula lútea de un mono diabético usando un sistema de evaluación establecido en rata. Como resultado, se confirmó que el edema se observaba en la fovea central macular que participa principalmente en la agudeza visual central. Esto puede decirse ante el resultado adicional de que el modelo de expresión de edema establecido en rata es adecuado para la evaluación de la maculopatía diabética.

[0011] Cuando los presentes inventores usaron el modelo experimental mencionado anteriormente para evaluar SNK-860, se descubrió que SNK-860 es eficaz para el edema en una capa de células visuales retinianas que tiene una función principal en el mantenimiento de la agudeza visual o para el edema en una mácula lútea (especialmente la fovea macular central). Mediante la realización de una evaluación clínica, se mostró que el presente compuesto no solo es eficaz para un edema en la mácula lútea sino que también muestra un efecto de mejora de la agudeza visual. Es decir, la presente invención se refiere a un agente profiláctico o terapéutico para el edema macular diabético, que comprende como principio activo un derivado de hidantoína representado por la siguiente fórmula general, preferiblemente, (2S,4S)-6-fluoro-2',5'-dioxospiro [croman-4,4'-imidazolidin]-2-carboxamida (SNK-860).



(En la fórmula, X representa un átomo de halógeno o un hidrógeno, R¹ y R² concurrente o diferencialmente representan un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁ a C₆ opcionalmente sustituido, o R¹ y R², juntos con un átomo de nitrógeno unido a los mismos y, opcionalmente, otro átomo de nitrógeno o un átomo de oxígeno se combinan para formar un heterociclo de 5 a 6 átomos, el halógeno representado por X es, preferiblemente, flúor, y el grupo alquilo C₁ a C₆ es preferiblemente un grupo metilo).

[0012] Entre los ejemplos de maculopatía diabética se incluyen el edema macular y la epitelopatía pigmentaria retiniana. Entre los ejemplos de edema macular diabético se incluyen el edema macular local y el edema macular difuso. Los agentes profilácticos o terapéuticos para el edema macular diabético según la presente invención están, preferiblemente, en forma de un agente oral.

[0013] La presente invención también se refiere a un modelo experimental animal con maculopatía diabética que utiliza un animal como un simplicitentata o primates distintos al ser humano. Este modelo es un modelo animal con maculopatía diabética que se produce sometiendo a un animal diabético a isquemia/reperfusión intraocular para manifestar el edema en una capa de células visuales retiniana o en una mácula lútea (especialmente en la fovea central macular). Como animal con diabetes mellitus, es posible utilizar no solo animales que tienen diabetes mellitus inducida, por ejemplo, administrando un agente farmacológico, como estreptozotocina o alloxano a una rata (rata normal) o a un mono (mono normal), sino también en animales con diabetes mellitus hereditaria.

[0014] Además, la presente invención abarca un procedimiento de evaluación de un agente farmacológico para la maculopatía diabética, que comprende el uso del animal modelo descrito anteriormente. Es decir, el procedimiento de la presente invención es un procedimiento para evaluar la eficacia de un agente farmacológico sobre el edema, que comprende la administración de un agente farmacológico para evaluar en el animal modelo y medir el espesor de la capa de células visuales retinianas o el espesor y/o volumen de la mácula lútea.

[0015] La presente invención proporciona no solo un agente terapéutico para el edema macular diabético, que puede administrarse durante un tiempo prolongado, sino también un modelo experimental animal necesario para estudiar un agente terapéutico para la maculopatía diabética.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0016]

En la Fig. 1 se muestra la relación del espesor de una capa de células visuales retinianas (relación (%) entre el espesor de una capa de células visuales en un ojo isquémico-reperfundido/espesor de una capa de células visuales en un ojo sin tratar en el mismo individuo) en el ejemplo 1 de ensayo de eficacia farmacológica. En la figura, el asterisco indica que existe una diferencia significativa con un factor de riesgo del 5%.

En la Fig. 2 se muestra la relación del espesor de una capa de células visuales de la retina (relación (%) entre el espesor de una capa de células visuales en un ojo isquémico-reperfundido/espesor de una capa de células visuales en un ojo sin tratar en el mismo individuo) en el ejemplo 2 de ensayo de eficacia farmacológica. En la figura, el asterisco indica que existe una diferencia significativa con un factor de riesgo del 5%.

En la Fig. 3 se muestra un cambio en el espesor mínimo, espesor medio y volumen medio de la fóvea central macular en un ojo isquémico/reperfundido en el ejemplo 3 de ensayo de eficacia farmacológica. En la figura, el asterisco indica que existe una diferencia significativa con un factor de riesgo del 5%.

- 5 En la Fig. 4 se muestra el espesor de una mácula lútea en una fóvea central macular (diámetro: 1 mm) y en el centro de la fóvea central antes y después de la administración en el ejemplo 4 de ensayo de eficacia farmacológica.

10 En la Fig. 5 se muestra un cambio en el espesor de la mácula lútea en los ojos del individuo (gráfica superior, en el centro de la fóvea central; gráfica inferior, en la fóvea central en el intervalo de diámetro de 1 mm) antes y después de la administración en el ejemplo 4 de ensayo de eficacia farmacológica. Un número en el ejemplo indica el número de identificación del caso y las letras OS y OD se refieren a los ojos izquierdo y derecho, respectivamente.

15 En la Fig. 6 se muestra la agudeza visual corregida antes y después de la administración en el ejemplo 4 de prueba de eficacia farmacológica.

MEJOR MODO DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

[0017] A partir de aquí en este documento, la presente invención se describe en más detalle.

20 [0018] Los derivados de hidantoína (especialmente SNK-860) puede administrarse por vía oral, por ejemplo, como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, líquido o jarabe, o por vía parenteral, como inyección y supositorios, que se formaron mediante técnicas farmacéuticas de fabricación habituales. Los excipientes farmacéuticamente aceptables en la producción farmacéutica, por ejemplo, almidón, lactosa, azúcar blanca refinada, glucosa, celulosa cristalina, carboxicelulosa, carboximetilcelulosa, carboxietilcelulosa, fosfato cálcico, estearato de
25 magnesio y goma arábica, pueden usarse en la preparación sólida y, si es necesario, pueden incorporarse a la preparación sólida un lubricante, un aglutinante, un agente de desintegración, un agente de recubrimiento, un agente colorante, etc. En la preparación líquida, pueden usarse un estabilizante, un solubilizante, un agente dispersante, un agente emulsionante, un tampón, un conservante, etc. La dosis varía dependiendo de los síntomas, la edad, el procedimiento de administración, la forma de preparación, etc., aunque preferiblemente el compuesto descrito arriba
30 se administra normalmente en el intervalo de 1 a 200 mg, preferiblemente de 1 a 100 mg, a un adulto de una vez o dividido en porciones diarias durante días consecutivos.

[0019] En los modelos animales con maculopatía diabética según la presente invención, pueden usarse como animales diabéticos animales con diabetes mellitus obtenidos tratando a animales normales con un agente farmacológico como estreptozotocina (STZ) o alloxano, o animales con diabetes mellitus hereditaria. Como tipo de
35 animales, pueden usarse simplicidentata como ratas, primates no humanos como monos, duplicidentata como conejos y animales carnívoros como cánidos. Cuando se usan animales simplicidentata, duplicidentata o carnívoros que no tienen intrínsecamente macula lútea, el edema se expresa en una capa de células visuales retinianas y el espesor de la capa de células visuales retinianas puede usarse en la evaluación. Por otro lado, en los primates no
40 humanos, existe normalmente una mácula lútea, de modo que el edema se expresa en la mácula lútea y el espesor y/o el volumen de la mácula lútea se utilizan en la evaluación. El espesor, etc., de la mácula lútea se evalúan preferiblemente en el lugar de la fóvea central macular. El tratamiento de isquemia/reperfusión intraocular puede llevarse a cabo parando el flujo sanguíneo retiniano aumentando la presión intraocular y aliviando, a continuación, la presión intraocular para permitir la reperfusión. El espesor de la capa de células visuales retinianas o de la mácula lútea varía significativamente dependiendo de los individuos, de modo que se establecen preferiblemente un ojo
45 tratado y un ojo no tratado en el mismo individuo, sometiendo solo un ojo a tratamiento intraocular de isquemia/reperfusión. Haciendo esto, puede realizarse una evaluación relativa del «espesor del ojo tratado/espesor del ojo sin tratar» en base al ojo no tratado de cada animal. Un agente farmacológico a examinar se administra en el animal modelo con maculopatía diabética según la presente invención y, a continuación, se evalúa la eficacia del
50 agente farmacológico para el edema como se describe anteriormente, por lo que puede evaluarse la eficacia del agente farmacológico para la maculopatía diabética. El procedimiento de administración del agente farmacológico no está especialmente limitado y la administración del agente farmacológico también se realiza tras el tratamiento isquemia intraocular/reperfusión, clarificando, de este modo, el efecto terapéutico.

55 EJEMPLOS

Ejemplo 1 de ensayo de eficacia farmacológica: ensayo en ratas 1

1. Procedimiento de ensayo

60 [0020] Se indujo diabetes mellitus en ratas macho Sprague Dawley (8 semanas de edad) que pesaban aproximadamente 250 g mediante inyección de estreptozotocina (STZ fabricado por Sigma) por vía intravenosa en su cola a dosis de 60 mg/kg. Una semana después del tratamiento con STZ, se determinó la glucosa en suero y, a continuación, se usaron en el experimento las ratas con al menos 300 mg/dl de glucosa como ratas diabéticas. Los
65 grupos del conjunto fueron los 3 grupos siguientes y 2 semana después del tratamiento con STZ, se administró una

solución de goma arábica al 5% o solución de SNK-860 por vía oral una vez al día.

1) grupo control normal (5 ratas): administrando una solución de goma arábica al 5% en una proporción de 5 ml/kg.

5 2) grupo control diabético (7 ratas): administrando una solución de goma arábica al 5% en una proporción de 5 ml/kg.

3) grupo diabético al que se administraron 32 mg/kg de SNK-860 (4 ratas): administrando una suspensión de SNK-860 (32 mg/5 ml) en una solución de goma arábica al 5% en una proporción de 5 mg/kg.

10 **[0021]** Tras la administración durante 2 semanas, se provocó una isquemia intraocular mediante el tratamiento descrito a continuación. Una vez finalizado el tratamiento, los animales se mantuvieron como de costumbre durante 2 días y, a continuación, se extrajeron los glóbulos oculares y se evaluaron histológicamente. También se llevó a cabo la administración del agente farmacológico durante el periodo (2 días) de reperfusión tras el
15 tratamiento isquémico.

Isquemia retiniana aumentando la presión intraocular

20 **[0022]** Un equipo de infusión por goteo (equipo de infusión por goteo Terufusion fabricado por Terumo) se conectó a una botella que contenía una solución de perfusión intraocular (Opeguard MA fabricado por Senjyu Siyahu) y se conectó al mismo un tubo de extensión (Terumo) al que se había conectado una llave de paso de tres vías. Se ajustó al extremo del tubo una aguja (30Gx1/2, fabricada por Nippon Becton Dickinton). La botella que contenía la solución de perfusión intraocular se fijó a una determinada altura con una base. Las ratas se
25 anestesiaron administrando pentobarbital sódico (Somunopentyl fabricado por Schering-Plough Animal Health) por vía intraperitoneal en una concentración de 50 mg/kg y, a continuación, se aplicó un midriático (Mydrin P fabricado por Santen Pharmaceutical) y un anestésico local (colirio Benoxyl al 0,4%, Santen Pharmaceutical) sobre el ojo derecho. El anestésico se administró adicionalmente cuando fue necesario. A continuación, se clavó una aguja en la cámara anterior del ojo derecho de la rata y se realizó una carga de presión intraocular manipulando la llave de paso de tres vías (la presión intraocular se aumentó a 130 mmHg o más durante 60 minutos). Puesto que el fondo del ojo
30 en la rata Sprague Dawley viraba de rojo a blanco al detener el flujo sanguíneo retiniano aumentando la presión intraocular, puede observarse fácilmente cuando se alcanza la isquemia retiniana. Después de haber aumentado la presión intraocular durante el tiempo predeterminado, se retiró la aguja para aliviar la presión intraocular y permitir la reperfusión y se aplicó un colirio antibacteriano (pomada ocular Tarivit fabricada por Santen Pharmaceutical) sobre el ojo derecho.

35 Evaluación histológica

[0023] Dos días después del tratamiento de isquemia (dos días después de la reperfusión), se extirparon los glóbulos oculares izquierdo y derecho anestesiando con éter. Los globos oculares extirpados se colocaron en una solución de fijación en hielo (solución de tampón fosfato que contenía glutaraldehído al 3%) y se fijaron los
40 mismos durante 2 días. A continuación, los globos oculares se lavaron durante 1 día con una solución de tampón fosfato. Los globos oculares se incluyeron de forma habitual en parafina para preparar cortes transversales que contenían un haz de nervios ópticos. Los cortes se tiñeron con hematoxilina eosina. La evaluación histológica se realizó para 2 campos visuales en el lado izquierdo y derecho (4 campos visuales/rata) en la proximidad al haz de nervios ópticos, de un microscopio óptico a un analizador de imagen (IPAP-WIN, Sumika Techno Service). En cada una de las imágenes retinianas resultados, se midió el espesor de la capa de células visuales. El grado de edema se expresó en porcentajes dividiendo el espesor de la capa de células visuales del globo ocular isquémico/reperfundido (ojo derecho) entre la capa celular visual del globo ocular no tratado (ojo izquierdo) en el mismo individuo. Como
45 indicador de las funciones de las células retinianas, se contaron los núcleos de la capa retiniana interna (capa de células ganglionares) y se evaluó el grado de pérdida de núcleos en relación con la proporción del número de núcleos encontrados por unidad de área.

2. Resultados y discusión

55 **[0024]** El efecto de SNK-860 sobre el edema se muestra en la Fig. 1. El espesor de la capa de células visuales tras la isquemia/reperfusión en las ratas en el grupo control normal se redujo en comparación con el del ojo sin tratar. Por otro lado, las ratas del grupo control diabético mostraron un aumento de la capa de células visuales mediante isquemia/reperfusión, y se confirmó la formación de edema ($p < 0,05$). En el grupo diabético que recibió 32 mg/kg de SNK-860, el espesor era prácticamente el mismo que en el del grupo control normal y no se observó edema.
60

[0025] A continuación, se describe la pérdida de núcleos en las células ganglionares. Como resultado de la exploración del grado de pérdida de núcleos de las células, no se identificó pérdida de núcleos en 5 ratas del

grupo control normal. En el grupo control diabético, se observaron resultados de pérdidas de núcleos en 3 de las 7 ratas, entre las cuales 2 ratas mostraron una pérdida del 50% o más de los núcleos. En el grupo diabético que recibió 32 mg/kg de SNK-860, no se observó pérdida de núcleos en ninguna de las 4 ratas.

- 5 **[0026]** Estos resultados muestran que SNK-860 inhibe la formación de edema cuando hay diabetes en una capa de células visuales y también previene las alteraciones en las funciones de las células retinianas.

Ejemplo 2 de ensayo de eficacia farmacológica: ensayo en ratas 2

10 1. Procedimiento de ensayo

[0027] El ensayo se realizó según el ejemplo 1 de ensayo de eficacia farmacológica. Los grupos del conjunto fueron los siguientes 4 grupos y a partir de 2 semanas tras el tratamiento con STZ, solución de goma arábica al 5% o solución de SNK-860 se administraron por vía oral una vez al día.

- 15 1) grupo control normal (10 ratas): administrando una solución de goma arábica al 5% en una proporción de 5 ml/kg.
- 2) grupo control diabético (9 ratas): administrando una solución de goma arábica al 5% en una proporción de 5 ml/kg.
- 20 3) grupo diabético al que se administraron 2 mg/kg de SNK-860 (10 ratas): administrando una suspensión de SNK-860 (2 mg/5 ml) en una solución de goma arábica al 5% en una proporción de 5 ml/kg.
- 25 4) grupo diabético al que se administraron 32 mg/kg de SNK-860 (9 ratas): administrando una suspensión de SNK-860 (32 mg/5 ml) en una solución de goma arábica al 5% en una proporción de 5 ml/kg.

[0028] La isquemia retiniana producida por el aumento de la presión intraocular se realizó según el ejemplo 1 de ensayo de eficacia farmacológica.

30 2. Resultados y discusión

[0029] El efecto de SNK-860 sobre el edema se muestra en la Fig. 2. El espesor de la capa de células visuales tras la isquemia/reperfusión en las ratas en el grupo control normal se redujo en comparación con el del ojo sin tratar. Por otro lado, las ratas del grupo control diabético mostraron un aumento de la capa de células visuales mediante isquemia/reperfusión, y se confirmó la formación de edema ($p < 0,05$). En el grupo diabético que recibió 2 mg/kg de SNK-860, no se observó acción inhibitoria sobre el edema, pero en el grupo diabético que recibió 32 mg/kg de SNK-860, el espesor de la capa de células visuales se mantuvo en el mismo valor que en el grupo control normal y se observó una acción inhibitoria sobre el edema evidente. Estos resultados indican que la formación de edema con diabetes en una capa de células visuales se inhibe mediante la administración de una alta dosis de SNK-860.

Ejemplo 3 de ensayo de eficacia farmacológica: ensayo en monos (*Macaca fascicularis*)

1. Procedimiento

- 45 **[0030]** Se indujo diabetes mellitus en monos machos (*Macaca fascicularis*) (3 años de edad) que pesaban aproximadamente de 2,1 a 2,4 kg mediante inyección intravenosa de STZ en la vena de las patas delanteras a dosis de 80 mg/kg. Dos días después del tratamiento con STZ, se midió la concentración de glucosa en sangre y, a continuación, se usaron los monos con al menos 200 mg/dl de glucosa en el experimento como monos diabéticos. Se administró insulina por vía subcutánea una o dos veces al día a los monos que mostraban concentraciones de glucosa en sangre de 300 mg/dl. Los grupos del conjunto fueron los 3 grupos siguientes y 2 semanas después del tratamiento con STZ, se administró una solución de goma arábica al 5% o solución de SNK-860 por vía oral una vez al día.

- 55 1) grupo control normal (4 monos): administrando una solución de goma arábica al 5% en una proporción de 5 ml/kg.
- 2) grupo control diabético (6 monos): administrando una solución de goma arábica al 5% en una proporción de 5 ml/kg.
- 60 3) grupo diabético al que se administraron 32 mg/kg de SNK-860 (4 monos): administrando una suspensión de SNK-860 (32 mg/5 ml) en una solución de goma arábica al 5% en una proporción de 5 ml/kg.

[0031] Tras la administración durante 2 semanas, se realizó un tratamiento isquémico intraocular como se describe a continuación, y una vez finalizado el tratamiento, los animales se mantuvieron de forma habitual durante 7 días. Antes del tratamiento isquémico y 7 días después del mismo, se midió el espesor y el volumen de la fovea macular central (en el intervalo de diámetro de 1 mm desde el centro de la mácula lútea) mediante un escáner TCO (Stratus TCO, Carl Zeiss). También se realizó la administración del agente farmacológico durante el periodo (7 días) de perfusión tras el tratamiento isquémico.

[0032] La isquemia retiniana producida por el aumento de la presión intraocular se realizó según el ejemplo 1 de ensayo de eficacia farmacéutica. Sin embargo, el tamaño de la aguja usada fue de 25Gx1/2 (Terumo). Después de aplicar un midriático sobre el ojo derecho (Mydrin P fabricado por Santen Pharmaceutical), se anestesió al mono por vía intramuscular administrando ketalar (Sankyo Life Tech.). Posteriormente, se aplicó un anestésico local (colirio Benoxyl al 0,4%) sobre el ojo y se impidió que el mono parpadeara con un espéculo para párpados. La anestesia con ketalar se realizó adicionalmente cuando fue necesario.

[0033] El espesor y el volumen de la fovea central macular se midieron de la forma siguiente. Tras aplicar un midriático (Mydrin P) sobre el ojo derecho del mono para dilatar suficientemente la pupila del ojo, se anestesió al mono por vía intramuscular administrando ketalar. A continuación, se sentó al mono en una silla para monos y se fijó la cabeza. El interior del ojo se observó con un escáner TCO para identificar la mácula lútea, seguido de una exploración. En base a la imagen macular transversal resultante, se analizó el espesor y el volumen de la fovea central macular.

Tabla 1

Grupo	Número de monos	Espesor medio de la mácula lútea (μm)		Volumen medio de la mácula lútea (mm^3)	
		Antes de la isquemia	7 días después de la isquemia	Antes de la isquemia	7 días después de la isquemia
Normal	4	174 ± 8	175 ± 11	$0,137 \pm 0,006$	$0,138 \pm 0,009$
Diabetes mellitus	6	177 ± 6	$191 \pm 5^{**}$	$0,139 \pm 0,005$	$0,149 \pm 0,004^{**}$
Diabetes mellitus administrando 860	4	157 ± 6	158 ± 2	$0,123 \pm 0,005$	$0,124 \pm 0,001$
**P<0,01 frente a «valor antes de la isquemia».					

2. Resultados

[0034] Los resultados se muestran en la tabla 1 y en la figura 3. En el grupo control normal, no se observó formación de edema y el espesor y el volumen (media) de la fovea central macular tras la isquemia y la perfusión eran similares antes del tratamiento y después de 7 días de tratamiento. En el grupo control diabético, por otro lado, se observó un aumento en el espesor y en el volumen de la fovea central macular 7 días después del tratamiento y se confirmó la formación de edema ($p < 0,01$). Este cambio aumentaba significativamente en comparación con el del grupo control normal ($p < 0,05$). En el grupo diabético que recibió 32 mg/kg de SNK-860, no se observó formación de edema ni cambio, de forma similar al grupo control normal. Estos resultados muestran que SNK-860 inhibe la formación del edema con diabetes en la fovea central macular.

Ejemplo 4 de ensayo de eficacia farmacológica: resultados clínicos

1. Procedimiento

[0035] Entre los pacientes con maculopatía diabética, los sujetos del ensayo fueron 10 pacientes con edema macular diabético que presentan engrosamiento retiniano o fuertes exudados en el polo posterior de la retina. SNK-860 se administró por vía oral a dosis de 30 mg (2 comprimidos que contenían 15 mg de SNK-860 cada uno) una vez al día antes del desayuno durante 8 semanas. Durante este periodo de ensayo, se prohibió el uso simultáneo de eparlestat, inyección intravítrea e inyección subtenoniana de una hormona de la corteza adrenal, fotocoagulación y vitrectomía. Se realizó un tratamiento básico de la diabetes mellitus de modo que se proporcione un control de la glucemia durante el periodo de ensayo.

[0036] La evaluación se realizó en términos de espesor de la fovea central macular (en el intervalo de diámetro de 1 mm desde el centro de la mácula lútea) y de espesor en el centro de la fovea central medido por tomografía de coherencia óptica (TCO, Carl Zeiss) así como por la agudeza visual corregida (Log MAR).

[0037] El Log MAR (Log del mínimo ángulo de resolución) es un tipo de agudeza visual logarítmica, la cual es la agudeza visual expresada en ángulo mínimo de resolución logarítmica. Una agudeza visual decimal de 1,0 utilizada con frecuencia en Japón es 0,0 en términos de Log MAR y una agudeza visual decimal de 0,1 de es 1,0 en Log MAR. Una agudeza visual Log MAR de 0,1 a 0,5 se corresponde con una agudeza visual decimal de 0,8 a 0,32.

5

Tabla 2

Espesor de la mácula lútea (μm) y agudeza visual corregida (Log MAR) (media $\pm$ desviación estándar)

	Cuando se inicia	Semana 8	Valor de P
Centro de la fovea central	323,1 $\pm$ 111,4	298,7 $\pm$ 90,6	0,0808
Fovea central (diámetro: 1 mm)	329,3 $\pm$ 87,7	300,4 $\pm$ 74,4	0,0493
Agudeza visual corregida	0,30 $\pm$ 0,22	0,24 $\pm$ 0,20	0,0917

10

Tabla 3

Agudeza visual corregida (número de ojos)			
Mejora en 2 fases	Mejora en 1 fase	Sin cambios	Deterioro en 1 fase
3	2	6	1

2. Resultados

[0038] Se evaluaron 12 ojos en los 10 casos. Cuando se inició el ensayo, el espesor de la fovea central macular (en el intervalo de diámetro de 1 mm) era de 324,3 μm de media y el espesor en el centro de la fovea central era de 323,1 μm de media. Después de 8 semanas, estos se redujeron a 300,4 μm y 298,7 μm , respectivamente (tabla 2, figura 4). En la figura 5 se muestra un cambio en el espesor de la mácula lútea en el ojo individual evaluado. Estos resultados muestran que el espesor de la mácula lútea o la porción correspondiente de la mácula lútea en el animal modelo también se confirmó de forma similar en humanos.

20

[0039] De los 12 ojos, se reconoció un desarrollo en 2 fases con respecto a la agudeza visual corregida en 3 ojos, desarrollo en una fase en 2 ojos y deterioro solo en un ojo (tabla 3). La agudeza visual corregida (Log MAR) media mejoró de 0,30 a 0,24 (figura 6). Por tanto, se mostró que SNK-860 tenía una acción de mejora de la agudeza visual importante en el tratamiento de la maculopatía.

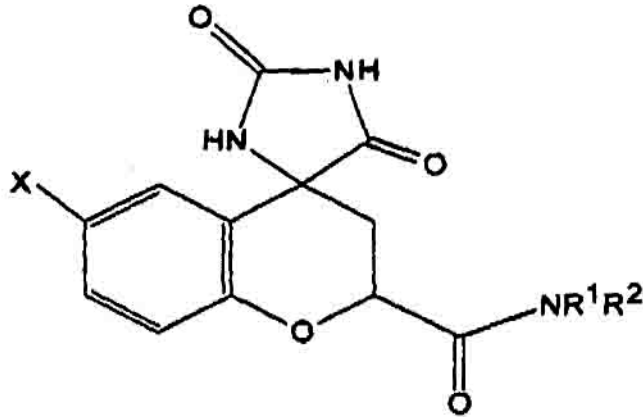
25

[0040] Según los resultados convencionales, la maculopatía diabética es una enfermedad que empeora de forma gradual y difícilmente mejora. Por el contrario, los resultados de los presentes ejemplos indican que SNK-860 es eficaz para la maculopatía diabética. Con respecto a la seguridad, no se reconoció ningún efecto secundario especialmente problemático.

30

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto representado por la siguiente fórmula general:



en el que X representa un átomo de halógeno o hidrógeno, R¹ y R² concurrente o diferencialmente representan un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁ a C₆, para la producción de un agente terapéutico para el tratamiento del edema macular diabético.

2. El uso de la reivindicación 1, en el que el agente terapéutico es para humanos.
3. El uso de la reivindicación 1 o 2, en el que el agente terapéutico está en forma de un agente oral.
4. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el compuesto es (2S,4S)-6-fluoro-2',5'-dioxospiro [croman-4,4'-imidazolidin]-2-carboxamida.
5. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el agente terapéutico es para el tratamiento del edema macular difuso.
6. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el agente terapéutico es para mejorar la agudeza visual o inhibir el deterioro de la agudeza visual en un paciente que tiene edema macular diabético.

Fig. 1

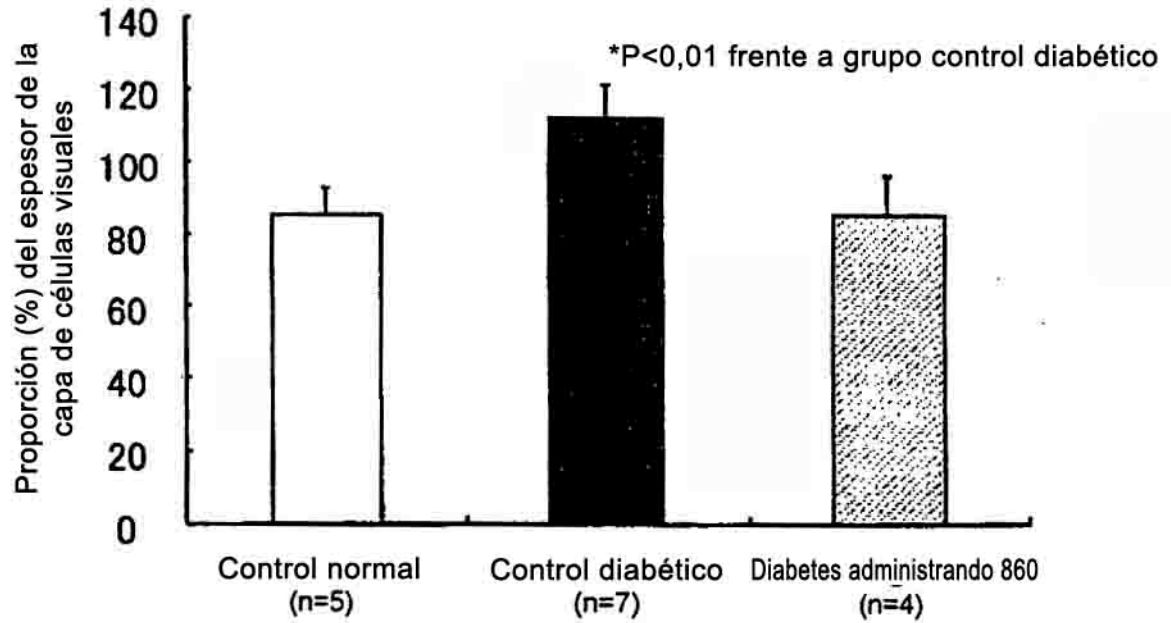


Fig. 2

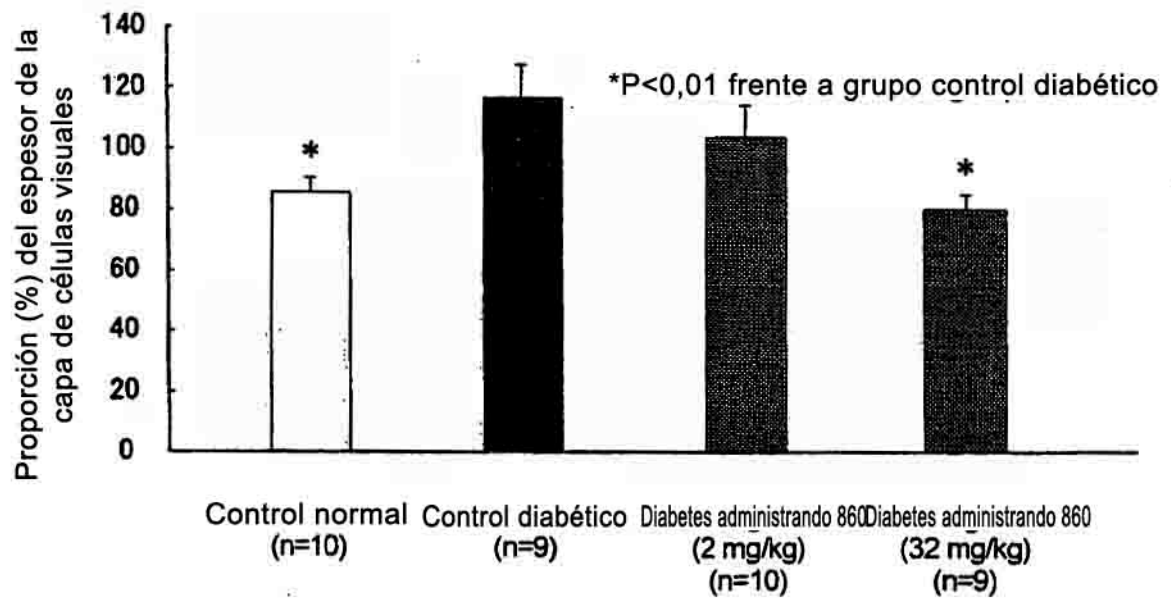
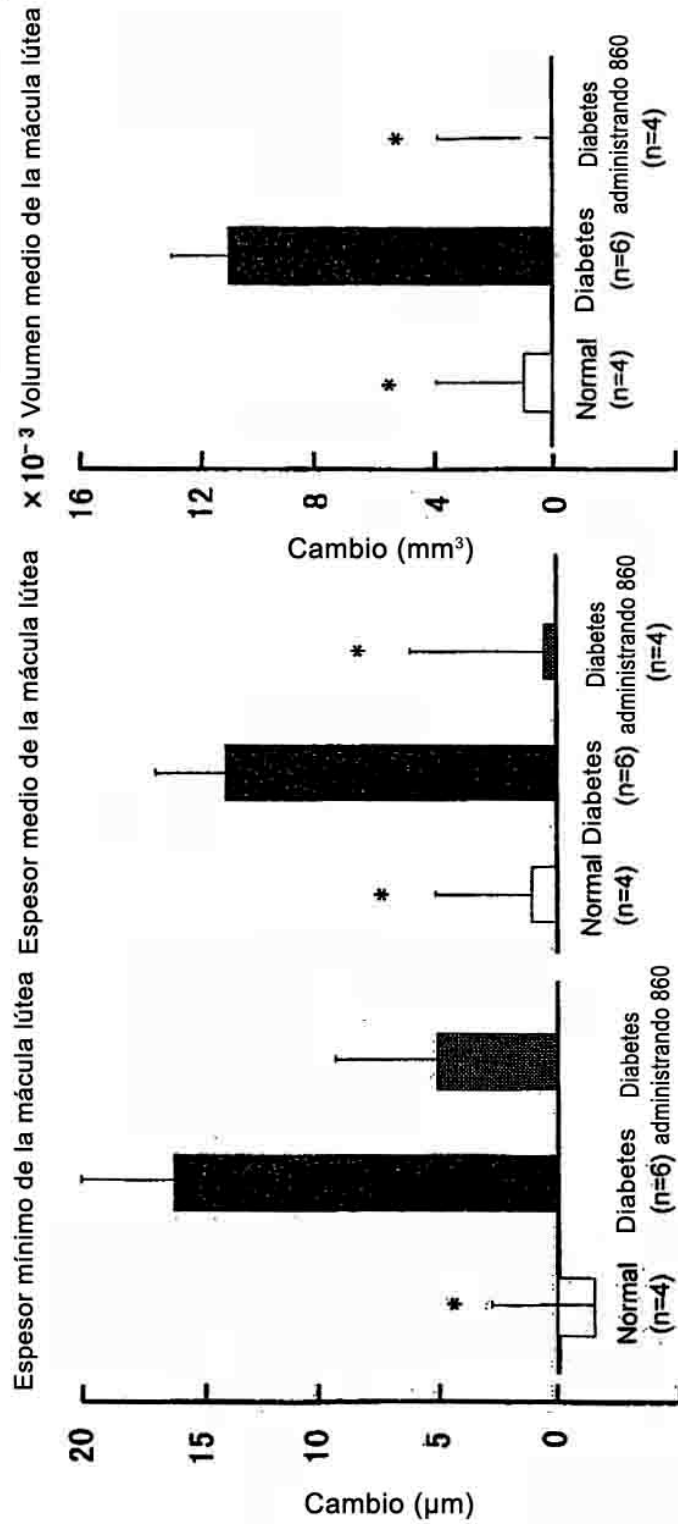


Fig. 3



*P<0,05 frente al grupo control diabético

Fig. 4

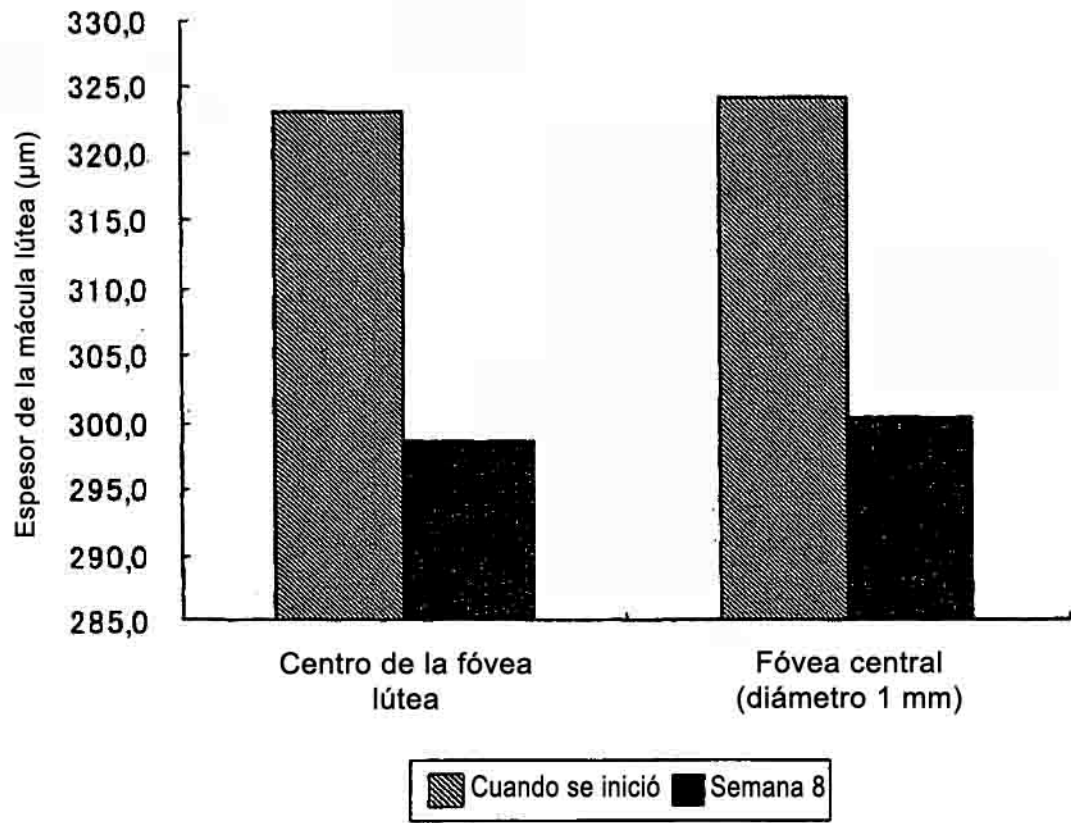


Fig. 5

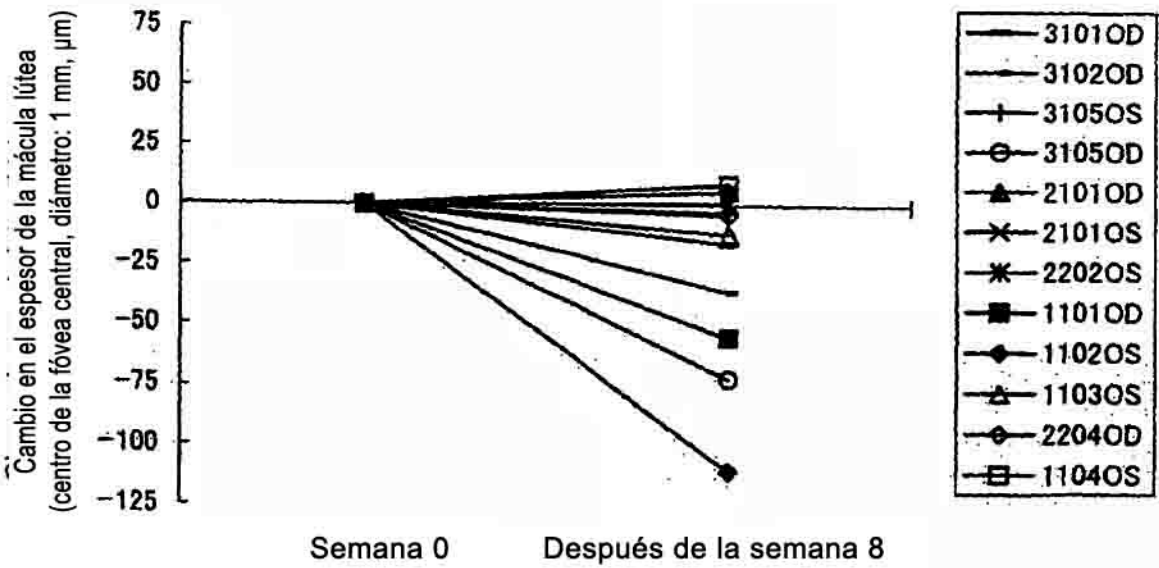
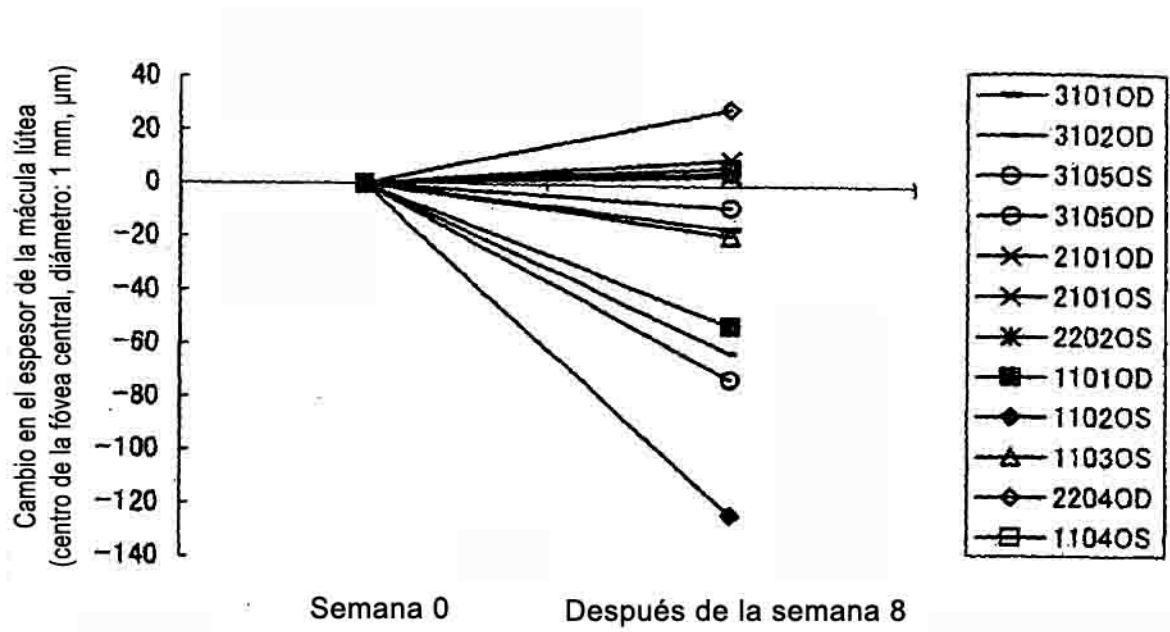


Fig. 6

