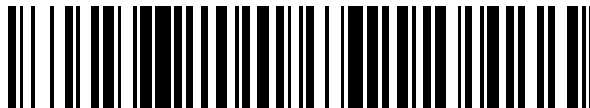


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 366**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.02.2011 E 11711656 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.11.2014 EP 2538918**

54 Título: **Citicolina para el tratamiento del glaucoma**

30 Prioridad:

22.02.2010 IT RM20100071

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

09.02.2015

73 Titular/es:

**OMIKRON ITALIA S.R.L. (100.0%)
Viale Bruno Buozzi 5
00197 Rome, IT**

72 Inventor/es:

**VIRNO, CRISTIANO y
MALIZIA, MARCO**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 528 366 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

Citicolina para el tratamiento del glaucoma

- 5 La presente invención se refiere a la citicolina y a composiciones de uso tópico que la contienen, destinadas al tratamiento del glaucoma.

ESTADO TÉCNICO ANTERIOR

- 10 El glaucoma es una patología crónica neurodegenerativa que se caracteriza por la pérdida progresiva de células ganglionares de la retina y por cambios estructurales de la cabeza del nervio óptico. Representa la segunda causa principal de ceguera a nivel mundial. El riesgo principal de la forma más frecuente, el glaucoma primario de ángulo abierto, es el aumento de la presión intraocular (PIO) y por tanto el primer procedimiento terapéutico consiste en el uso de fármacos hipotonizantes de aplicación tópica. Sin embargo en más de un tercio de los pacientes, a pesar de tener la presión bien controlada, el avance del daño visual se retrasa, pero no se detiene; por consiguiente hay que recurrir a otros mecanismos independientes de la presión (Grieb P y otros. J Neurosci Res 2002). En concreto, tras una lesión primaria de naturaleza hiperbárica se desencadena una apoptosis neuronal, que interfiere en el aporte normal de sangre al nivel de la zona capilar de esta estructura, y se compromete el transporte axonal regular, tanto anterógrado como retrógrado, de los metabolitos y neurotrofinas, que es indispensable para la supervivencia de las células ganglionares. La apoptosis es responsable de la lesión secundaria vinculada a los mecanismos excitotóxicos locales debidos a la hiperestimulación de los receptores de NMDA por glutamato liberado de las células apoptóticas. En efecto, cuando sus concentraciones en el espacio extracelular son excesivas, el glutamato sobreestimula los receptores de NMDA en la superficie de las neuronas circundantes, produciendo la apertura de los canales de Ca^{++} . La hiperfluencia de iones Ca^{++} a la célula supone el desencadenamiento de la cascada bioquímica que lleva a la apoptosis de la propia neurona, formando un mecanismo capaz de auto-alimentación, incluso en ausencia de la lesión primaria. Otra etapa clave del mecanismo de daño celular durante la apoptosis es la sobreactivación de la fosfolipasa A2, un enzima capaz de desestabilizar y disgregar la membrana celular por catabolismo de su principal componente, el fosfolípido fosfatidilcolina (Burgoyne FC y otros, Prog Retin Eye Res 2005;24). Evidentemente la hipotonización ocular tiene escasos efectos en la lesión secundaria que representa realmente una cascada mortal responsable de la progresión del daño visual.

- 25 En el campo de la neuroprotección se presta especial atención a la molécula de citicolina (citidin-5'-difosfocolina) por su mecanismo de acción y por pruebas científicas que van desde estudios experimentales hasta ensayos clínicos en pacientes glaucomatosos.

- 35 La citicolina (citidin-5'-difosfocolina) es un precursor natural de la fosfatidilcolina, el componente principal de las membranas neuronales y mitocondriales. Si se toma por vía oral es absorbida rápidamente y menos del 1% se excreta en las heces. La concentración máxima en el plasma se alcanza 1 hora después de la ingestión y 24 h más tarde aparece un pico mayor. Se metaboliza en la pared intestinal y en el hígado. La colina y la citidina, procedentes de la hidrólisis de la misma molécula, son absorbidas por la circulación sistémica y atraviesan separadamente la barrera hematoencefálica (BHE) resintetizando citicolina (citidin-5'-difosfocolina) a nivel cerebral. La eliminación tiene lugar principalmente por vía respiratoria y excreción urinaria, disminuyendo los dos picos en el plasma, es decir una primera eliminación rápida seguida de otra más lenta (Citicoline, monograph Altern Med Rev 2008).

- 45 A nivel cerebral la citicolina actúa sobre todo como sustrato para la formación de fosfatidilcolina y como inhibidor de la fosfolipasa A2; por tanto tiene actúa directamente sobre el daño de la membrana de la neurona todavía viable. Además esta molécula ejerce una acción neuromoduladora, principalmente a nivel del sistema dopaminérgico, lo cual brinda la posibilidad de usar citicolina en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y también del glaucoma, pues la dopamina es uno de los principales neurotransmisores involucrados en la transmisión de la señal visual, tanto a nivel retínico como post-retínico.

- 50 En la literatura hay numerosos estudios que demuestran el efecto positivo de la citicolina en pacientes de glaucoma, tanto en el campo visual por campimetría computerizada (Pecori Giraldi y otros 1989) como en la vía visual completa mediante el uso del electroretinograma patrón (ERGP) y potenciales evocados visuales (PEV) (Parisi y otros 1999, 2005, 2008, Rejadak y otros 2003).

- 55 En particular los estudios de Parisi y colaboradores confirman los mismos resultados en pacientes glaucomatosos bajo terapia hipotonizante y con administración de citicolina, tanto por vía intramuscular (1000 mg/día) como oral (1600 mg/día), respecto a pacientes glaucomatosos sometidos solamente a terapia hipotonizante, y la necesidad de repetir cíclicamente el tratamiento para mantener los efectos positivos en la función visual (duración total del estudio 8 años).

- 60 En 2009 Chan y otros publicaron los resultados del *empleo in vivo* de espectroscopia de resonancia magnética (espectroscopia de resonancia magnética de protón, ERM-H¹) en modelos experimentales de glaucoma en ratas y demostraron que el glaucoma también se caracteriza por la alteración del metabolismo de colina a nivel del córtex visual, lo cual es un reflejo del riesgo de integridad estructural de las membranas neuronales. Naturalmente la

administración intramuscular de citicolina para el tratamiento del glaucoma es muy molesta para el paciente y no permite el uso de la sustancia durante los largos periodos de tiempo necesarios para obtener los resultados positivos observados en los estudios. La administración intramuscular - además del inconveniente de no poder realizarla el propio paciente y tener que depender de una persona capaz de poner inyecciones intramusculares - puede ser difícil de llevar a cabo, sobre todo en pacientes de edad avanzada expuestos al riesgo de complicaciones infecciosas en caso de terapia crónica.

La administración oral de citicolina para el tratamiento del glaucoma, a pesar de que representa una ventaja en comparación con la administración intramuscular, está limitada por dificultades como la imposibilidad de realizarla en sujetos con patologías gástricas o intestinales y también por la baja concentración de principio activo que llega al nivel de la cabeza del nervio óptico, que es la estructura nerviosa más dañada por la patología del glaucoma, debido a la metabolización en el hígado.

Oshitari y otros (Neuroreport 2002) evaluaron el efecto regenerador neurítico *in vitro* obtenido al añadir citicolina a células ganglionares de retina cultivadas (RGCs), procedentes de retinas de ratón explantadas.

Por consiguiente, vistos estos antecedentes, era muy necesario proponer nuevas estrategias terapéuticas de tipo neuroprotector para el tratamiento del glaucoma.

RESUMEN DE LA PRESENTE INVENCION

Los estudios realizados por los presentes inventores en un modelo experimental *in vivo* han demostrado de modo sorprendente que la administración de citicolina sobre la superficie ocular es ideal para asegurar que el principio activo pase al segmento posterior del ojo (cámara vítrea) y llegue a la retina y a la cabeza del nervio óptico.

Una de las características esenciales de la presente invención es el hecho de que nunca se ha usado tópicamente una sustancia con acción neuroprotectora de la retina y del nervio óptico como la citicolina; en realidad debe tenerse en cuenta que hasta la fecha la citicolina solo se había administrado por vía IM (intramuscular), IV (intravenosa) u oral y que de ningún modo se podía prever que la citicolina administrada sobre la superficie ocular pudiera cruzar las barreras dentro de la córnea - que son impermeables a muchos principios activos por la presencia de agrupaciones de los canales intercelulares ("*gap junctions*") que conectan entre sí las células del epitelio córneo, de la conjuntiva, de la esclerótica y de la red trabecular - alcanzando la retina y la cabeza del nervio óptico.

Por lo tanto el objeto de la presente invención es el uso tópico de la citicolina para tratar el glaucoma, tal como se define en las reivindicaciones. También son objeto de la presente invención unas composiciones de uso tópico para tratar el glaucoma y/o la hipertensión ocular, que contienen citicolina y uno o más vehículos y/o diluyentes y/o excipientes.

La presente invención conlleva una serie de ventajas en la terapia contra el glaucoma, que es una de las principales causas mundiales de ceguera, y la hipertensión ocular:

- Facilidad de administración en comparación con las formas farmacéuticas de citicolina actualmente conocidas.
- Menor concentración de principio activo necesaria para lograr el objetivo terapéutico, la retina y el nervio óptico, y llegar directamente al sitio de acción, sobre todo porque mediante esta vía se evitan los filtros hepático y renal, que metabolizan una gran parte del principio activo reduciendo de manera importante la actividad farmacológica.
- Otra ventaja de la presente invención es la posibilidad de administrar el principio activo varias veces al día, lo cual no solo permite alcanzar valores elevados del principio activo a nivel de la retina, sino también mantenerlos fácilmente, algo que no es factible con las vías de administración empleadas hasta la fecha. De hecho, en el caso de la vía intramuscular se comprende fácilmente que es impensable realizar terapias de larga duración con repetidas inyecciones a lo largo del día, mientras que en el caso de la vía oral los problemas, aparte de la conformidad con el paciente, están relacionados con posibles complicaciones gastrointestinales debidas a la terapia crónica.

Las ventajas, características y modos de aplicar la presente invención resultan evidentes en la siguiente descripción detallada de algunas formas de ejecución de la misma que se ofrecen como ejemplo, pero no con fines limitativos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS FIGURAS

Figura 1. Perfil de HPLC obtenido del análisis de una muestra del ojo derecho de un ratón tratado con una solución basada en 2% de citicolina, 0,2% de ácido hialurónico y 0,01% de BAK, tal como se describe en los ejemplos. El perfil de las muestras analizadas indica la presencia de un pico a 1,36 minutos de tiempo de elución, que corresponde a citicolina. En este ensayo se demuestra la presencia de cantidades importantes de citicolina en la cámara posterior del ojo tratado.

Figura 2. Perfil de HPLC obtenido del análisis de una muestra del ojo izquierdo (contralateral) de un ratón tratado con una solución basada en 2% de citicolina, 0,2% de ácido hialurónico y 0,01% de BAK, tal como se describe en los ejemplos. El perfil de la muestra analizada indica la presencia de un pico tras 0,95 minutos de tiempo de

elución, que corresponde a citicolina. En este ensayo se demuestra la presencia de cantidades importantes de citicolina en la cámara posterior del ojo contralateral, asumiendo por tanto su absorción sistémica a través de la red trabecular.

5 Figura 3. Perfil de HPLC obtenido del análisis de una muestra del ojo derecho (tratado) de un ratón tratado con una solución basada en 1% de citicolina, 0,2% de ácido hialurónico y 0,01% de BAK, tal como se describe en los ejemplos. El perfil de la muestra analizada indica la presencia de un pico tras 1,04 minutos de tiempo de elución, que corresponde a citicolina. En este ensayo se demuestra la presencia de cantidades importantes de citicolina en la cámara posterior del ojo tratado.

10 Figura 4. Perfil de HPLC obtenido del análisis de una muestra del ojo izquierdo (contralateral) de un ratón tratado con una solución basada en 1% de citicolina, 0,2% de ácido hialurónico y 0,01% de BAK, tal como se describe en los ejemplos. El perfil de la muestra analizada no pone de relieve la presencia de citicolina, que por tanto en este ensayo no puede pasar al ojo contralateral a través de la vía sistémica.

Figura 5. Perfil de HPLC obtenido del análisis de una muestra del ojo izquierdo (contralateral, el ojo derecho se había perdido) de un ratón usado como control negativo (no tratado). No se observa citicolina.

15 Figura 6. Resultados del test campimétrico del paciente 1 antes del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

Figura 7. Resultados del test campimétrico del paciente 1 después del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

20 Figura 8. Resultados del test campimétrico del paciente 2 antes del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

Figura 9. Resultados del test campimétrico del paciente 2 después del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

Figura 10. Resultados del test campimétrico del paciente 3 antes del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

25 Figura 11. Resultados del test campimétrico del paciente 3 después del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

Figura 12. Desviación media (MD) (indicada como desviación estándar en el panel del lado izquierdo) y desviación estándar del modelo (DSM) (indicada como desviación del modelo en el panel del lado derecho) obtenidas en el test campimétrico del paciente 1 antes del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

30 Figura 13. Desviación media (MD) (indicada como desviación estándar en el panel del lado izquierdo) y desviación estándar del modelo (DSM) (indicada como desviación del modelo en el panel del lado derecho) obtenidas en el test campimétrico del paciente 1 después del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

35 Figura 14. Desviación media (MD) (indicada como desviación estándar en el panel del lado izquierdo) y desviación estándar del modelo (DSM) (indicada como desviación del modelo en el panel del lado derecho) obtenidas en el test campimétrico del paciente 2 antes del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

40 Figura 15. Desviación media (MD) (indicada como desviación estándar en el panel del lado izquierdo) y desviación estándar del modelo (DSM) (indicada como desviación del modelo en el panel del lado derecho) obtenidas en el test campimétrico del paciente 2 después del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

45 Figura 16. Desviación media (MD) (indicada como desviación estándar en el panel del lado izquierdo) y desviación estándar del modelo (DSM) (indicada como desviación del modelo en el panel del lado derecho) obtenidas en el test campimétrico del paciente 3 antes del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

50 Figura 17. Desviación media (MD) (indicada como desviación estándar en el panel del lado izquierdo) y desviación estándar del modelo (DSM) (indicada como desviación del modelo en el panel del lado derecho) obtenidas en el test campimétrico del paciente 3 después del tratamiento con la composición basada en citicolina descrita en el ejemplo 2.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA PRESENTE INVENCION

55 Según la presente invención, la citicolina (citidin-5'-difosfocolina), comprada o preparada conforme a los protocolos descritos en el estado técnico conocido, p.ej. según el protocolo productivo de Kyowa (Registro del principio activo citicolina de Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd), se administra sobre la superficie ocular de pacientes de glaucoma tal como se define en las reivindicaciones.

60 La citicolina para uso tópico se puede emplear en el tratamiento de todas las formas diferentes de glaucoma, como p.ej. en el glaucoma congénito, el glaucoma de ángulo abierto, el glaucoma de ángulo cerrado y el glaucoma sin hipertensión.

Son objeto de la presente invención las composiciones definidas por las reivindicaciones, que contienen citicolina para uso tópico en el tratamiento del glaucoma.

65

Naturalmente estas composiciones deben comprender uno o más vehículos, diluyentes y/o excipientes apropiados para preparar composiciones oftálmicas. A tal fin sirven todos los vehículos, diluyentes o excipientes tolerados por el ojo. Como ejemplos de excipientes utilizables en dichas composiciones cabe mencionar el polisorbato 80, polietilenglicoles (p.ej. PEG 200, PEG 400), dextrano y análogos.

5 Dichas composiciones también pueden incluir vehículos adecuados para aumentar la biodisponibilidad, la estabilidad y la tolerabilidad del principio activo. Por ejemplo, se pueden emplear agentes tales como ácido hialurónico, metilcelulosa, poli(vinil alcohol), poli(vinil pirrolidona), etc., para incrementar la viscosidad.

10 Dichas composiciones pueden llevar vehículos como p.ej. dimetil sulfóxido, fosfolípidos de membrana y surfactantes para mejorar la biodisponibilidad de la citicolina mediante el aumento de la permeabilidad de la córnea.

Para evitar contaminaciones estas composiciones podrían incluir uno o más conservantes de acción antimicrobiana, como p.ej. el cloruro de benzalconio (abreviado BAK).

15 En estas composiciones la concentración de citicolina está comprendida preferiblemente entre 5 y 30 mg por gramo o ml de composición.

20 De acuerdo con la presente invención la citicolina se emplea con preferencia a una concentración por dosis unitaria comprendida aproximadamente entre 0,0035 y 1,5 mg/día.

Se entiende por "dosis unitaria" la dosis que se administra cada vez al paciente, ya sea subdividida en varias tomas durante el día, diariamente o a intervalos de días.

25 Aparte de citicolina las composiciones aquí descritas podrían comprender otros principios activos de uso tópico para el tratamiento del glaucoma y/o de la hipertensión ocular, como p.ej. fármacos tópicos anti-hipertensivos.

30 Dichas composiciones de uso tópico podrían formularse de cualquier forma considerada por el especialista como adecuada para ser aplicada directamente sobre la superficie ocular, como p.ej. un ungüento, suspensión, gotas para los ojos, gel, crema, espuma, espray, linimento, polvo.

Estas composiciones se pudieron preparar según las técnicas conocidas del especialista en la materia.

35 Las gotas para los ojos pueden contener sales tales como fosfato sódico monobásico monohidrato, fosfato sódico dibásico dodecahidrato, cloruro sódico o una combinación de las mismas y preferiblemente puede ser una solución fisiológica con 0,9% de NaCl, a un pH fisiológico (7,0-7,4) y a una osmolaridad fisiológica (290-310 mOsm).

40 En una forma de ejecución preferida las gotas para ojos contienen citicolina entre 0,5% y 3% p/v, preferiblemente 2%, ácido hialurónico a una concentración comprendida entre 0,1% y 0,3%, preferiblemente 0,2%, cloruro de benzalconio a una concentración comprendida entre 0,005 y 0,02%, preferiblemente 0.01%.

45 Tal como se describe detalladamente en la sección de ejemplos, los inventores han observado sorprendentemente que la administración de citicolina sobre la superficie ocular en combinación con ácido hialurónico y cloruro de benzalconio, preferiblemente en forma de gotas para ojos y en las concentraciones aquí descritas, produce una absorción óptima del principio activo en el segmento posterior del ojo (cámara vítrea).

50 Las composiciones en forma de emulsiones pueden ser de tipo O/W (aceite/agua) o W/O o bien W/O/W y O/W/O, mejor si se trata de micro o nanoemulsiones, pero también pueden ser dispersiones coloidales o soluciones. Las microemulsiones se pueden preparar como geles, cremas o incluso en forma de espumas. Para preparar emulsiones se pueden usar todos los surfactantes conocidos, como p.ej. los de tipo silicónico, glucosídico y fosfolípido.

55 La presente invención también proporciona un método para tratar el glaucoma y/o la hipertensión ocular, el cual consiste en administrar cantidades efectivas de una composición como la aquí descrita a aquellos pacientes que lo necesiten.

Las formas de glaucoma mencionadas se pueden seleccionar del grupo formado por glaucoma congénito, glaucoma de ángulo abierto, glaucoma de ángulo cerrado y glaucoma sin hipertensión.

60 En el método de tratamiento la dosis exacta y la frecuencia de administración de las composiciones dependerá de la gravedad concreta de la enfermedad tratada, de la edad, del peso y del estado físico general de cada paciente, como es bien sabido de los especialistas.

A continuación se indican algunas dosis efectivas que se pueden administrar:

65 se podrían administrar a una dosis unitaria comprendida entre aproximadamente 0,0035 y aproximadamente 1,5 mg/día, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos para el tratamiento del glaucoma, como p.ej. fármacos tópicos anti-hipertensivos cuya dosis unitaria podría ser aproximadamente del

100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30% o menos respecto a la dosis unitaria empleada normalmente en la terapia contra el glaucoma.

5 A continuación la descripción se detalla mediante los siguientes ejemplos, que tienen un fin meramente ilustrativo sin limitar el alcance de la protección dispensada.

EJEMPLOS

10 Ejemplo 1. Protocolo de preparación de gotas para ojos que contienen 1% p/v de citicolina.

10 Los componentes se disolvieron en una cantidad adecuada de agua a las siguientes concentraciones: 0,01% de fosfato sódico monobásico monohidrato, 0,1% de fosfato sódico dibásico dodecahidrato, 0,7% de cloruro sódico, 0,2% de ácido hialurónico, c.s. de agua purificada hasta 100%. Luego se añadió 1% de citicolina, agregando cada componente tras la completa disolución del precedente. Se disolvió BAK (cloruro de benzalconio) al 0,01% en un pequeño volumen de agua destilada calentado a 70°C y esta disolución se incorporó a la solución previamente preparada. Se controló el pH resultante, estabilizándose dentro de los valores requeridos, es decir entre 7,0 y 7,2, y después se completó el volumen de la solución.

20 Ejemplo 2. Protocolo de preparación de gotas para ojos que contienen 2% p/v de citicolina.

20 Los componentes se disolvieron en una cantidad adecuada de agua a las siguientes concentraciones: 0,01% de fosfato sódico monobásico monohidrato, 0,1% de fosfato sódico dibásico dodecahidrato, 0,65% de cloruro sódico, 0,2% de ácido hialurónico, c.s. de agua purificada hasta 100%. Luego se añadió 2% de citicolina, agregando cada componente tras la completa disolución del precedente. Se disolvió BAK (cloruro de benzalconio) al 0,01% en un pequeño volumen de agua destilada calentado a 70°C y esta disolución se incorporó a la solución previamente preparada. Se controló el pH resultante, estabilizándose dentro de los valores requeridos, es decir entre 7,0 y 7,2, y después se completó el volumen de la solución.

30 Ejemplo 3. Estudios del paso de citicolina a través de los tejidos oculares.

Administración de citicolina a ratones.

35 El ensayo se realizó con cinco ratones de la línea CD-1 (peso de cada ratón: aproximadamente 30 g) repartidos del siguiente modo:

- a) 2 ratones se trataron con las gotas para ojos que contenían 1% de citicolina, preparadas según el ejemplo 1;
- b) 2 ratones se trataron con las gotas para ojos que contenían 2% de citicolina, preparadas según el ejemplo 2;
- c) 1 ratón de control no tratado.

40 El ojo derecho de cada ratón se trató con 2 gotas de solución oftálmica 2 veces al día durante tres días.

Preparación de las muestras para el análisis

45 Al cuarto día, después de sacrificar los animales, se recogieron sus ojos, se enjuagaron en solución fisiológica y luego se conservaron en hielo:

Grupo a): ratón 1: OD entero (OD = ojo derecho) en solución STF (solución de tampón de fosfato); OI entero (OI = ojo izquierdo) en solución STF; ratón 2: OD en suspensión, lavado con 1,5 ml de STF; OI en suspensión, lavado con 1,5 ml of STF.

Grupo b): ratón 1: OD entero en solución STF; OI entero en solución STF; ratón 2: OD en suspensión, lavado con 1,5 ml de STF; OI en suspensión, lavado con 1.5 ml de STF.

50 Grupo c): OD entero en solución STF; OI entero en solución STF.

En el laboratorio las suspensiones se consideraron inútiles para el análisis debido a la excesiva dilución; por tanto solo se utilizaron ojos enteros del siguiente modo:

- se aspiró el humor vítreo con una jeringa tipo SGE de 100 µl y se diluyó con 20 µl de agua destilada;
- se centrifugó el humor vítreo diluido;
- se recogió el sobrenadante y se le añadieron 50 µl de una solución al 50% de agua y al 50% de metanol;
- se pasó por un agitador vortex.

60 Las muestras así preparadas se analizaron luego por cromatografía líquida y espectrometría de masas (LC-MS/MS).

Análisis por espectrometría de masas (LC-MS/MS) de la presencia de citicolina en las muestras.

Las muestras analizadas por espectrometría de masas (LC-MS/MS) dieron los siguientes resultados:

- Muestra 1) OD del ratón tratado con 2% citicolina = la molécula es visible (figura 1)
- Muestra 2) OI del ratón tratado con 2% citicolina = la molécula es visible (figura 2)
- Muestra 3) OD del ratón tratado con 1% citicolina = la molécula es visible (figura 3)

Muestra 4) OI del ratón tratado con 1% citicolina = la molécula NO es visible (figura 4)

Muestra 5) OI de control (el OD se perdió) = LA MOLÉCULA NO ES VISIBLE (figura 5). En la curva de HPLC el pico correspondiente a la citicolina se identificó por espectrometría de masas y las curvas de HPLC obtenidas (figuras 1-5) se compararon con la curva resultante de una muestra patrón de citicolina.

- 5
- Conclusiones de los resultados obtenidos:
- la máquina lee la molécula con gran seguridad, puesto que la señal está presente a los mismos tiempos en todas las 4 transiciones empleadas;
 - la máquina realizó siempre lecturas en blanco entre las muestras, a fin de evitar contaminaciones;
 - 10 – entre las concentraciones del 1% y 2% no hay diferencia en cuanto a la absorción sistémica, que es inferior a la concentración más baja y no es visible en el ojo izquierdo.
 - la molécula, transportada por dicha solución, llega al humor vítreo.

15 Ensayo clínico

Se evaluó la acción de una composición basada en citicolina, administrada por vía tópica ocular a pacientes de glaucoma crónico simple bajo terapia hipotonizante. A estos pacientes, además de la terapia hipotensiva ocular corriente se les administró la composición a base de citicolina en forma de gotas para ojos descrita en el ejemplo 2, con una posología consistente en 1 instilación 3 veces al día durante al menos 1 mes. Se observó que a pesar de no producirse ninguna variación en absoluto de la presión ocular, después de solo un mes de tratamiento el campo visual mostraba importantes mejoras en todos los pacientes tratados. En concreto se observó una mejoría notable en todos los 3 casos tratados, tal como lo demuestra la prueba campimétrica de la escala de sensibilidad (escala de grises, ver figuras 6-11), la desviación media (MD) y la desviación estándar del modelo (DSM) (véase la tabla 1 y las figuras 12-17). La definición e interpretación de estos parámetros es conocida del especialista en la materia.

25 Tabla 1

Casos clínicos	MD basal	MD tras 1 mes de tratamiento	DSM basal	DSM tras 1 mes de tratamiento
Paciente # 1	- 5,32 dB	- 3,97 dB	6,23 dB	4,77 dB
Paciente # 2	- 8,94 dB	- 5,76 dB	5,83 dB	4,94 dB
Paciente # 3	- 10,39 dB	- 8,06 dB	12,15 dB	10,25 dB

30 Discusión de los resultados del ensayo clínico

No se encontró ninguna variación de la presión ocular, lo cual realza que los cambios del campo visual se deben a la acción directa de la citicolina sobre el nervio óptico. Estos datos se observaron cuando el fármaco se administró a dosis 40 veces superiores por vía sistémica y nunca se habían visto con una administración tópica de gotas para ojos. Para resumir, podemos afirmar que en estos pacientes de glaucoma la administración de citicolina en gotas para ojos mejoró el campo visual y que este resultado clínico es atribuible a su acción sobre la cabeza del nervio óptico. Dicha acción tiene una relación dosis/efecto notablemente mayor que la existente en la literatura mediante la administración IM, IV y oral, y el efecto es más rápido.

40 REFERENCIAS

1. Grieb P. y otros, Pharmacodynamics of citicoline relevant to the treatment of glaucoma [*Farmacodinamia de la citicolina relevante para el tratamiento del glaucoma*]. J Neurosci Res 2002;67:143-148
2. Burgoyne FC y otros, The optic nerve head as a biomechanical structure: a new paradigm for understanding the role of IOP-related stress and strain in the pathophysiology of glaucomatous optic nerve head damage [*La cabeza del nervio óptico tiene una estructura biomecánica: nuevo paradigma para entender el papel del estrés y el esfuerzo relacionado con la PIO en la patofisiología de la lesión glaucomatosa de la cabeza del nervio óptico*]. Prog Retin Eye Res 2005;24(1):39-73
3. Citicoline [*Citicolina*], monograph Altern Med Rev 2008;13(1):50-57
4. Oshitari T, Fujimoto N, Adachi-Usami E., Citicoline has a protective effect on damaged retinal ganglion cells in mouse culture retina [*La citicolina tiene un efecto protector sobre las células ganglionares dañadas de la retina en cultivos de retina de ratón*]. Neuroreport 2002;13(16):2109-2111.
5. Pecori Giraldo J y otros, Therapeutic value of citicoline in the treatment of glaucoma (computerized and automated perimetric investigation) [*Valor terapéutico de la citicolina en el tratamiento del glaucoma (estudio perimétrico computerizado y automatizado)*]. Intern Ophth 1989;13:109-112
- 55 6. Parisi V y otros, Cytidine-5-diphosphocholine (citicoline) improves retinal and cortical responses in patients with glaucoma [*La citidin-5-difosfocolina (citicolina) mejora las respuestas retinales y corticales en los pacientes de glaucoma*]. Ophth 1999;106:1126-1134
7. Rejadak R y otros, Oral citicoline treatment improves visual pathway function in glaucoma [*El tratamiento con citicolina oral mejora el funcionamiento de la vía visual en el glaucoma*]. Med Sci Monit 2003;9(3):P124-28

8. Parisi V, Electrophysiological assessment of glaucomatous visual dysfunction during treatment with cytidine-5-diphosphocholine (citicoline): a study of 8 years of follow-up [*Evaluación electrofisiológica de la disfunción visual glaucomatosa durante el tratamiento con citidin-5-difosfocolina (citicolina): un estudio de 8 años de seguimiento*].
- 5 9. Parisi V y otros, Evidence of the neuroprotective role of citicoline in glaucoma patients [*Evidencia del papel neuroprotector de la citicolina en pacientes de glaucoma*]. Prog in Brain Res 2008;173:541-54
10. Rejadak R, Citicoline treatment increases retinal dopamine content in rabbits [*El tratamiento con citicolina incrementa el contenido retinal de dopamina en los conejos*]. Ophthalmic Res 2002;34:146-49
- 10 11. Chan KC y otros, Proton magnetic resonance spectroscopy revealed choline reduction in the visual cortex in an experimental model of chronic glaucoma [*La espectroscopia de resonancia magnética de protón ha revelado la disminución de colina en el córtex visual de un modelo experimental de glaucoma crónico*]. Exp Eye Res 2009;88:65-70

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición oftálmica de uso tópico para el tratamiento del glaucoma, que contiene citicolina y uno o más vehículos, siendo dicho vehículo un agente aumentador de la viscosidad.
2. La composición según la reivindicación 1, que además contiene uno o más diluyentes y/o excipientes.
- 10 3. La composición según la reivindicación 1 o 2, en la cual dicha citicolina tiene una concentración comprendida entre 5 y 30 mg por gramo o ml de composición.
4. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en que dicha citicolina tiene una concentración por dosis unitaria comprendida entre 0,0035 y 1,5 mg/día.
- 15 5. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en que dicho vehículo es ácido hialurónico.
6. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en la cual dicho excipiente es cloruro de benzalconio.
- 20 7. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que además comprende uno o más principios activos de uso tópico para el tratamiento del glaucoma.
8. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en una forma elegida del grupo constituido por una solución, un ungüento, una suspensión, gotas para los ojos, un gel, una crema, una espuma, un espray, un linimento, un producto en polvo.
- 25 9. La composición según la reivindicación 8 en forma de gotas para los ojos, en las cuales dicha citicolina tiene una concentración comprendida entre el 0,5 y 3% p/v.
- 30 10. La composición según la reivindicación 9, que contiene cloruro de benzalconio a una concentración entre 0,005 y 0,02% p/v y ácido hialurónico a una concentración entre 0,1 y 0,3% p/v.

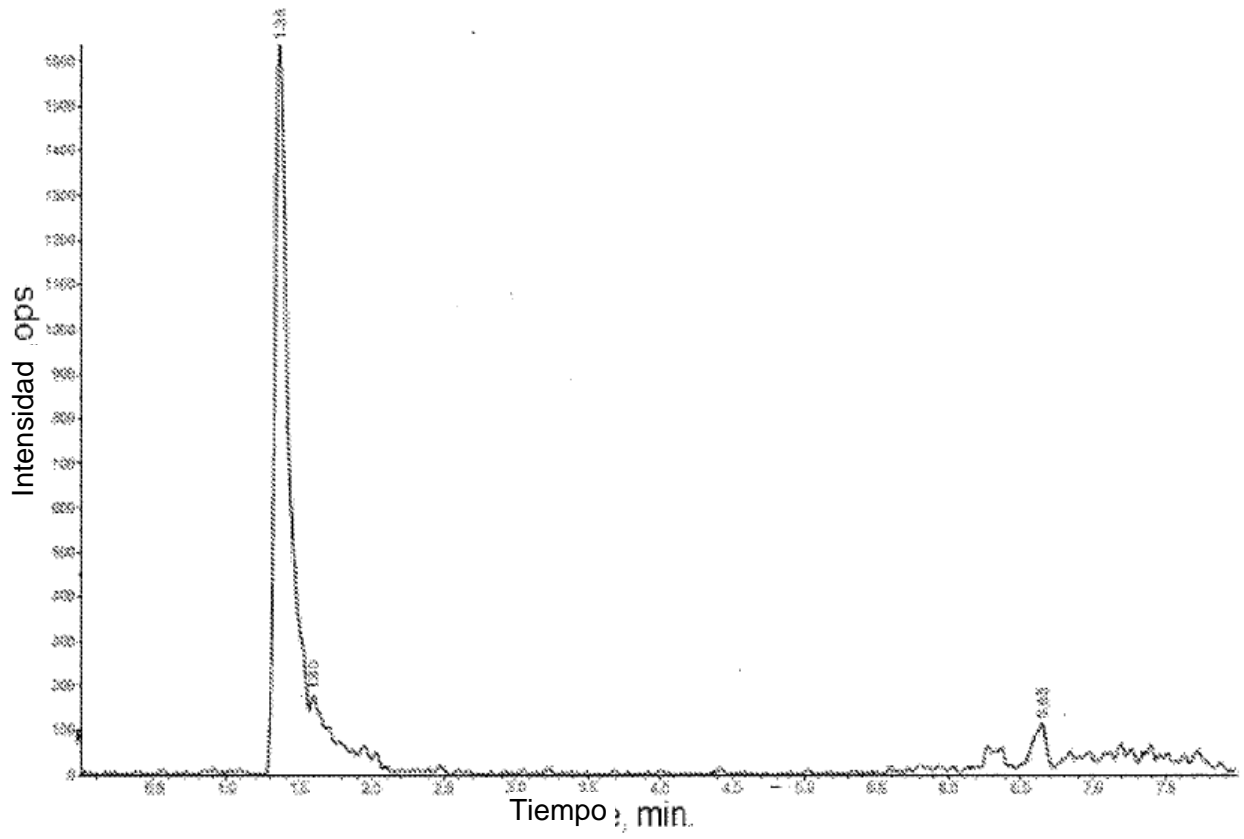


Fig. 1

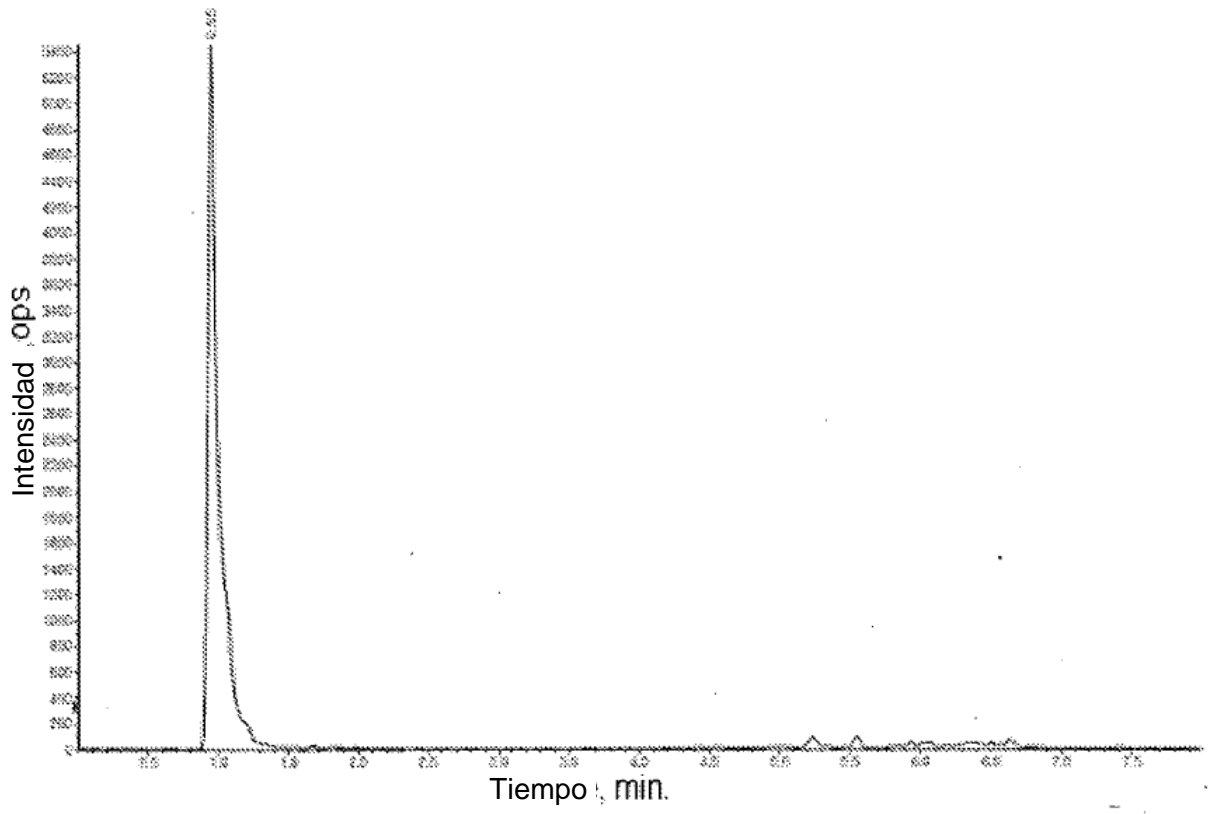


Fig. 2

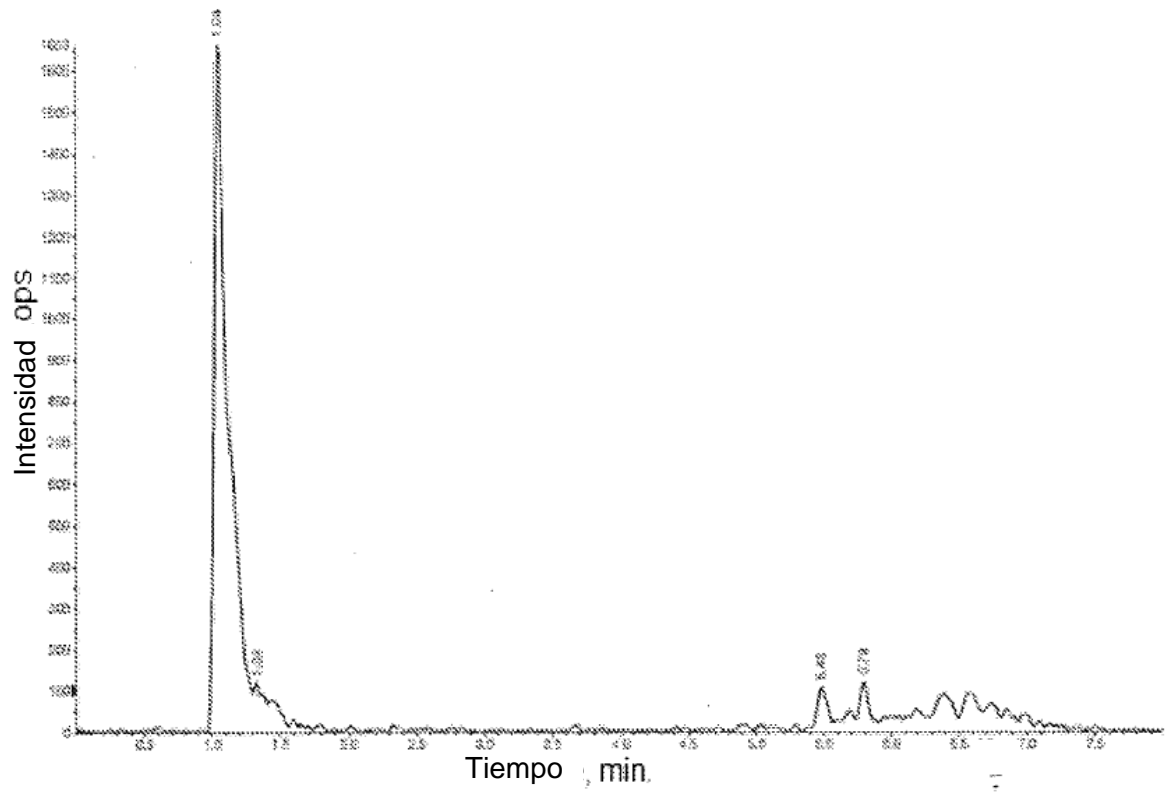


Fig. 3

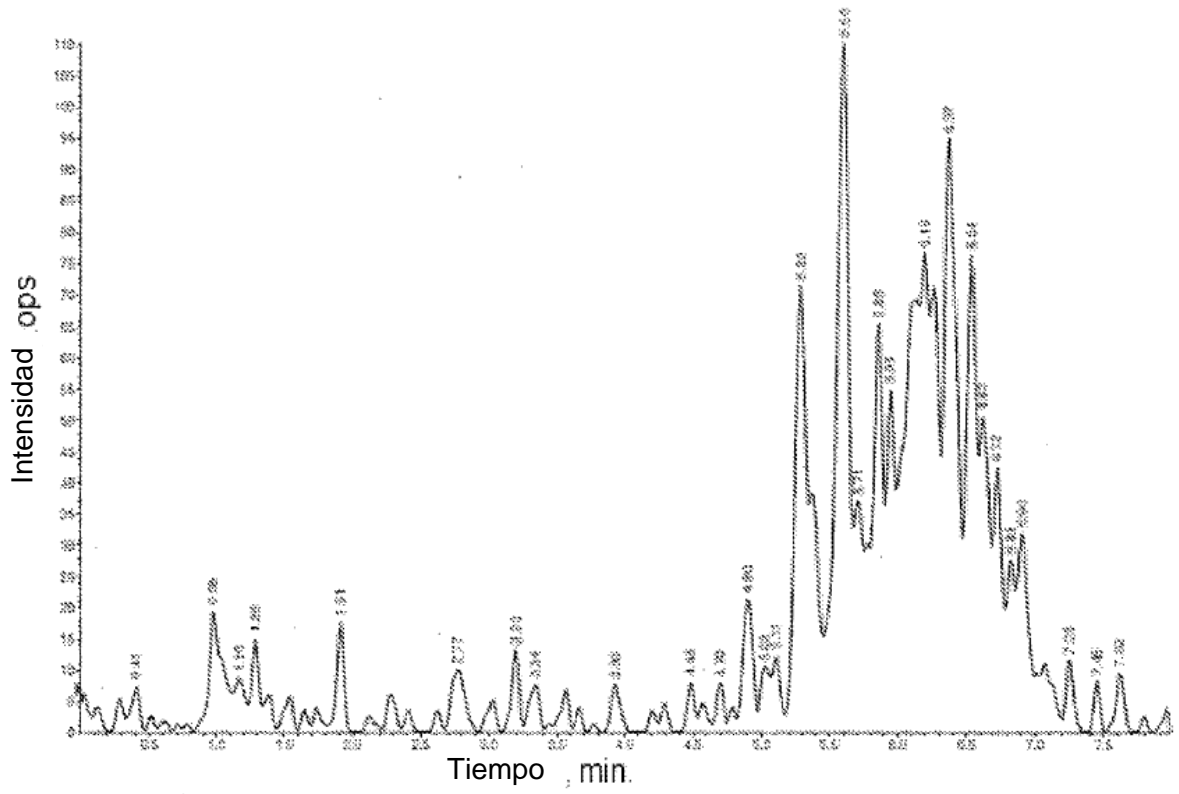


Fig. 4

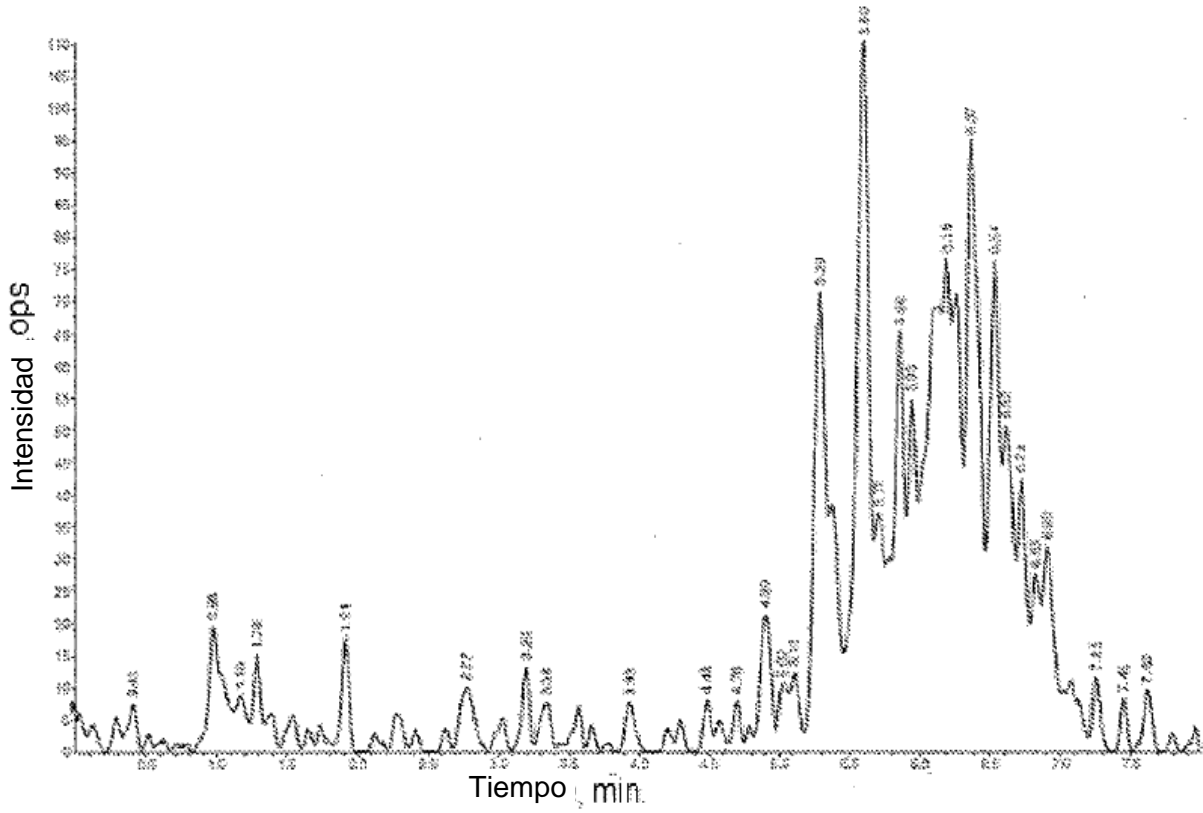


Fig. 5

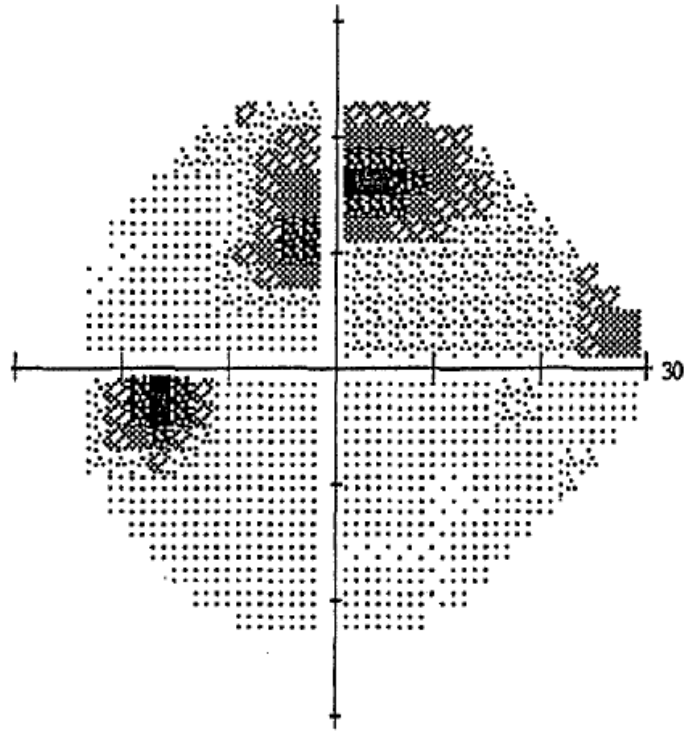


Fig. 6

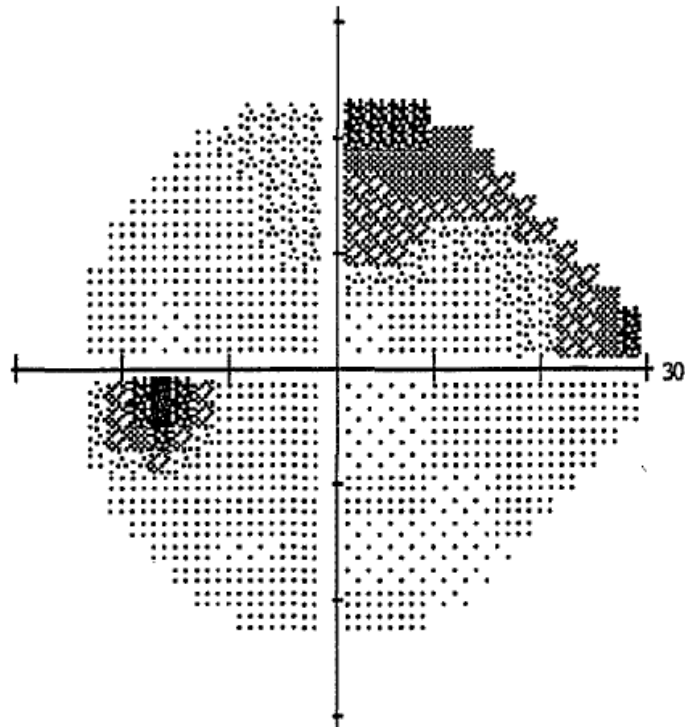


Fig. 7

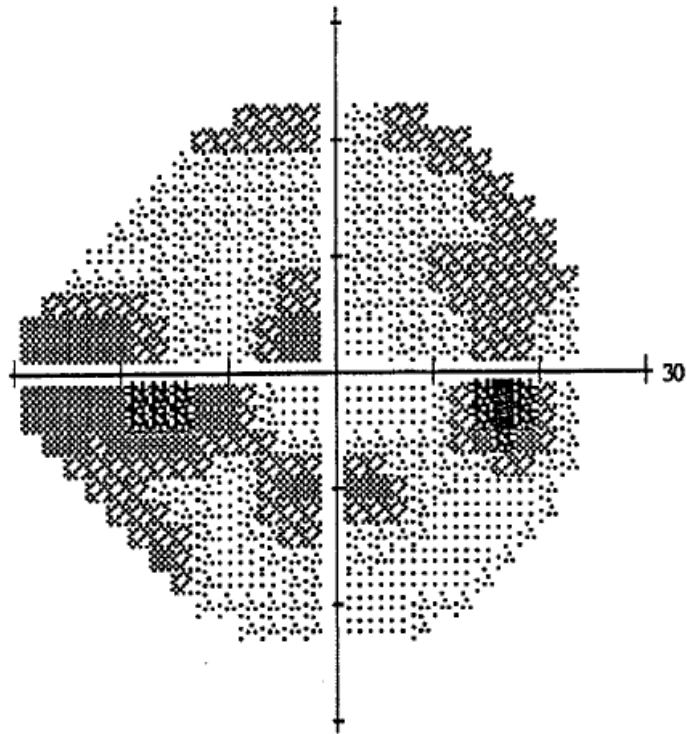


Fig. 8

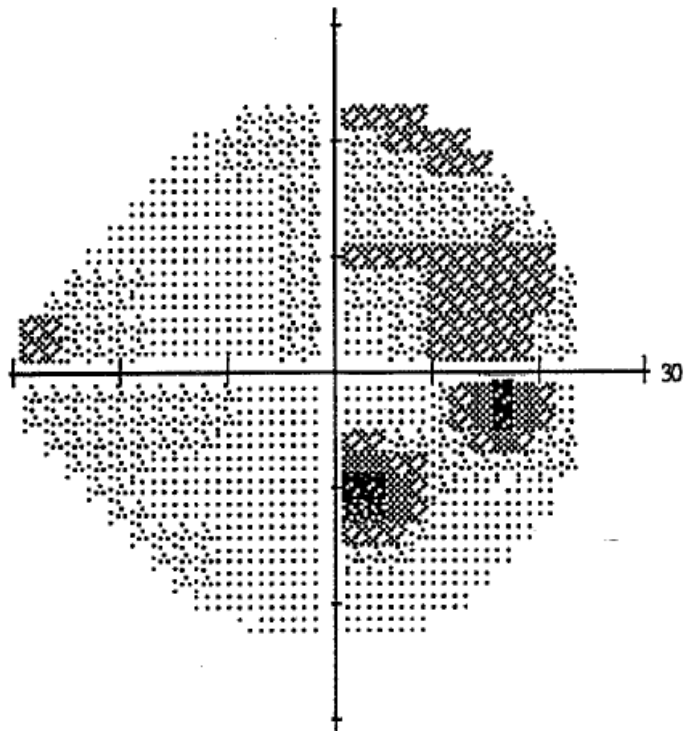


Fig. 9

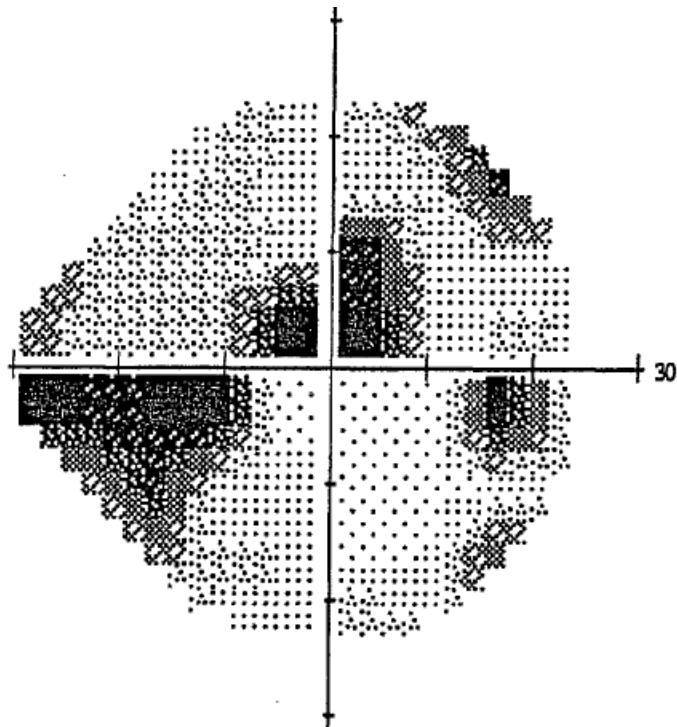


Fig. 10

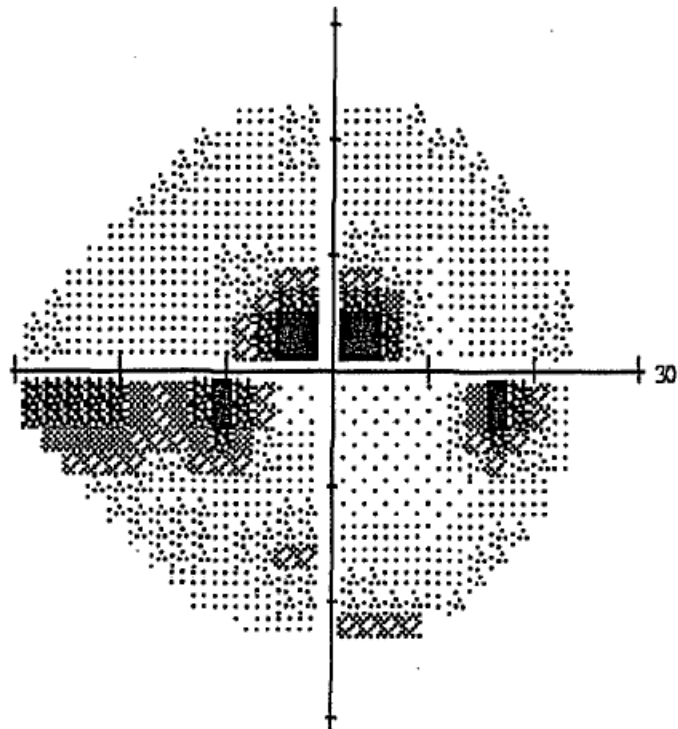


Fig. 11

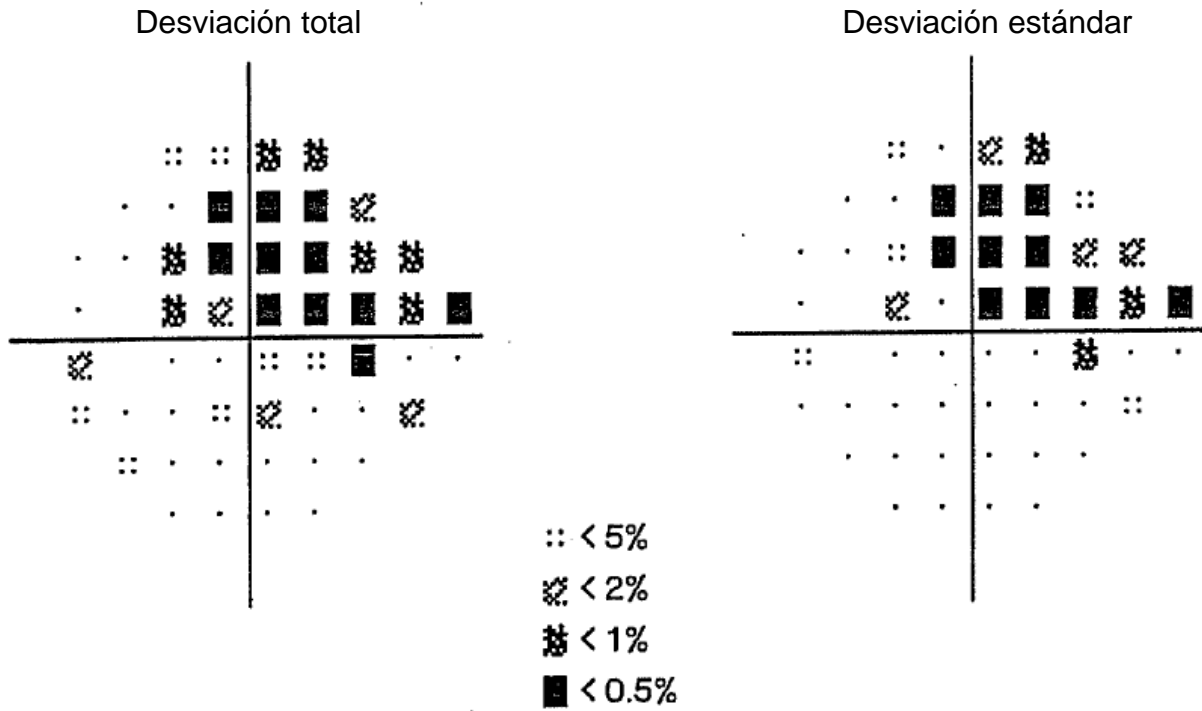


Fig. 12

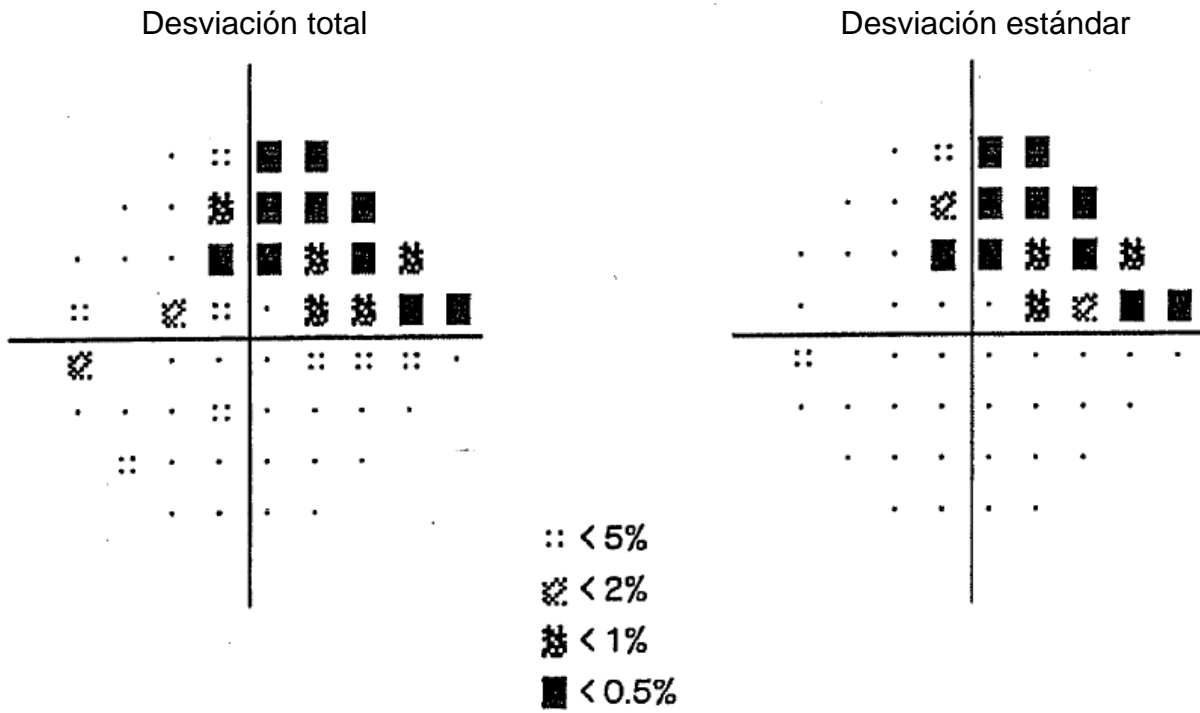


Fig. 13

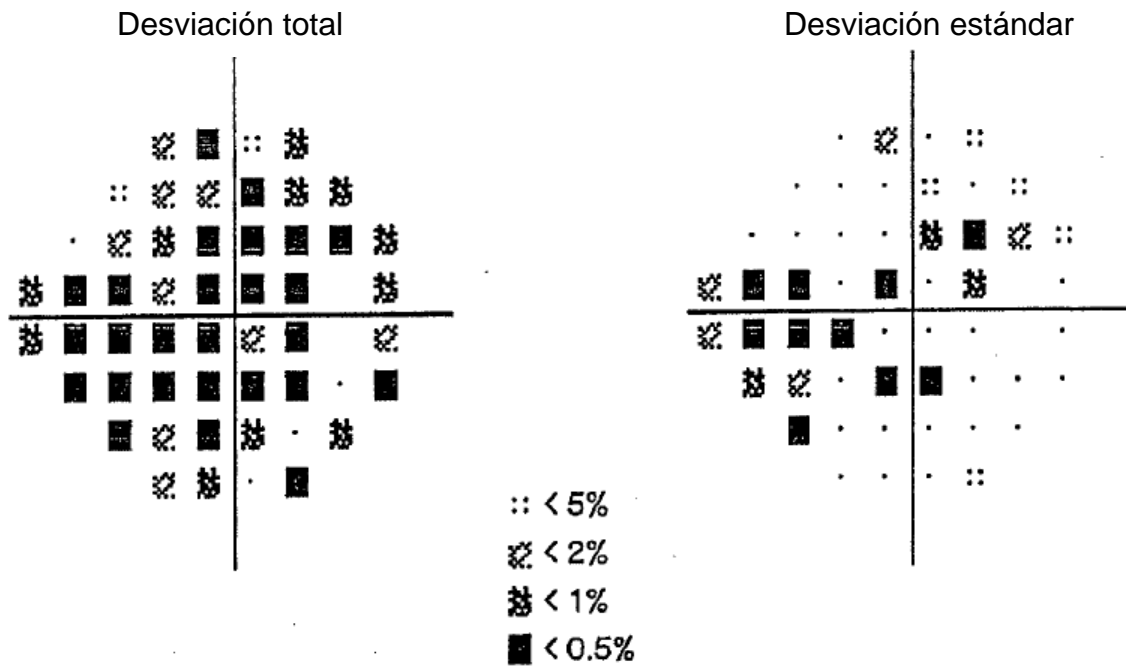


Fig. 14

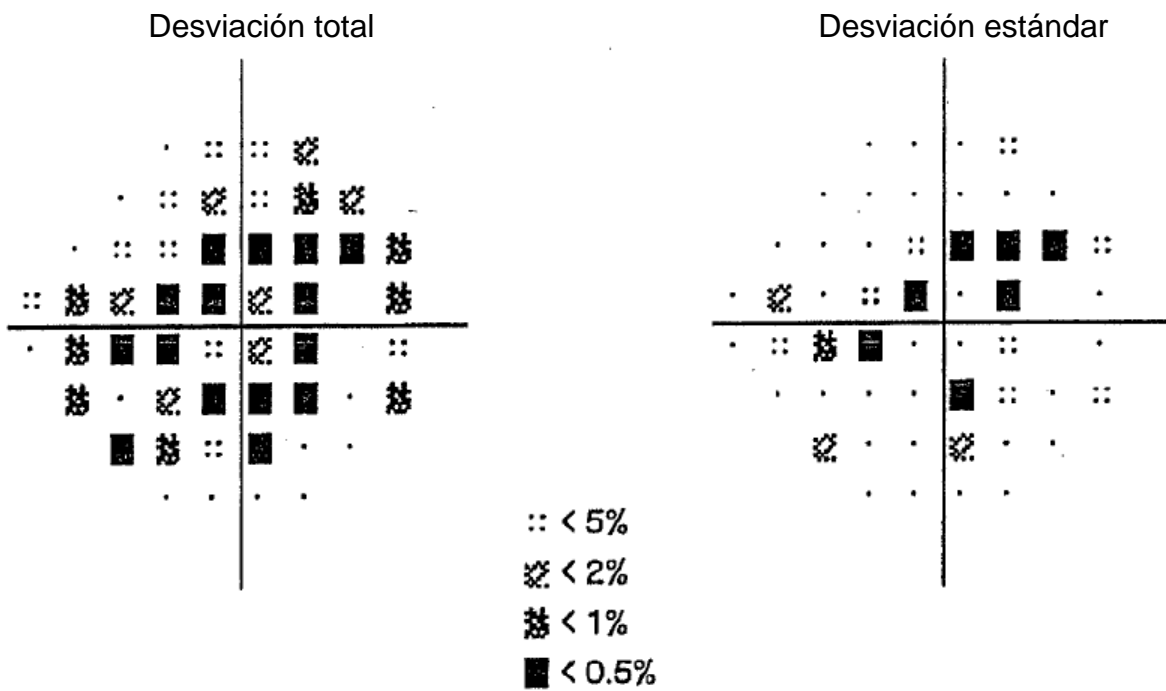


Fig. 15

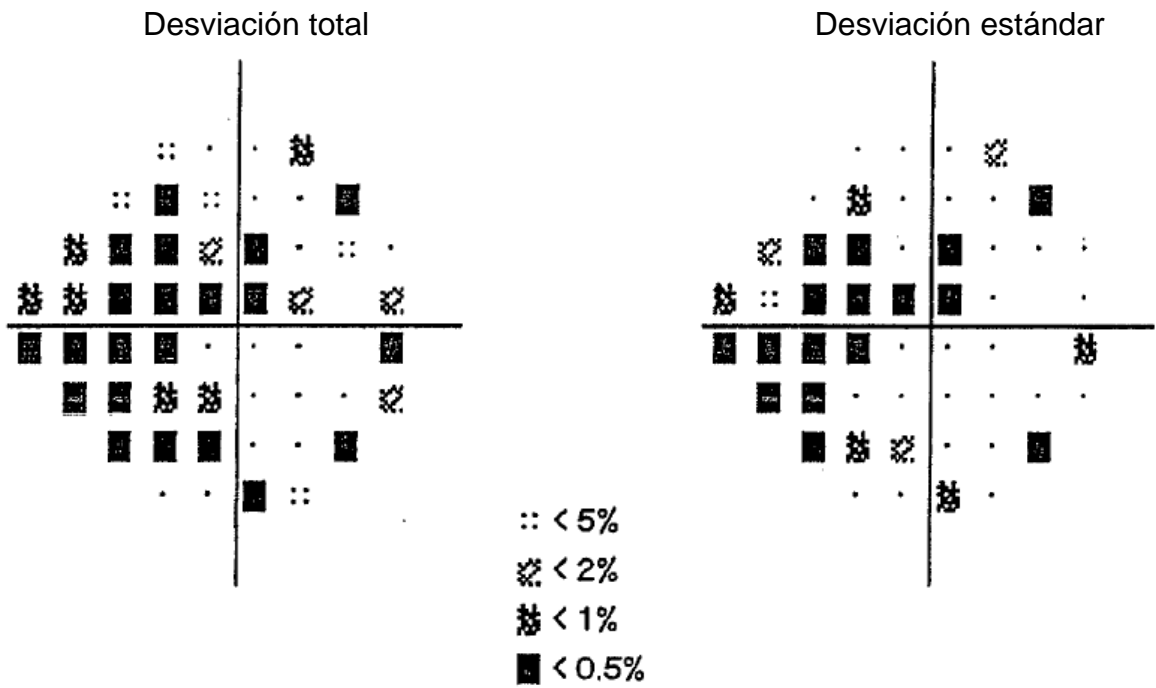


Fig. 16

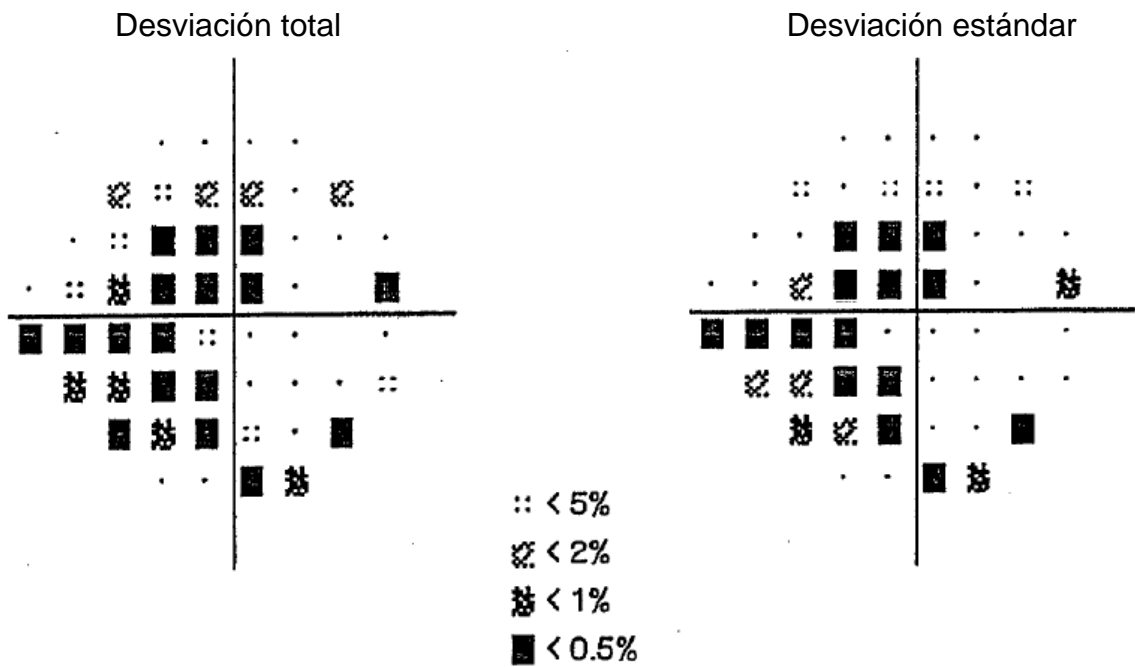


Fig. 17