

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 246**

51 Int. Cl.:

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 31/728** (2006.01)

**A61K 31/675** (2006.01)

**A61P 27/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2011 E 11823663 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2016 EP 2614838**

54 Título: **Diquafosol y ácido hialurónico o sales de los mismos para el tratamiento del ojo seco**

30 Prioridad:

**10.09.2010 JP 2010203198**

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

**09.05.2016**

73 Titular/es:

**SANTEN PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)  
9-19, Shimoshinjo 3-chome, Higashiyodogawa-ku  
Osaka-shi, Osaka 533-8651, JP**

72 Inventor/es:

**SHICHIJO, YUKO;  
DOTA, ATSUYOSHI;  
NAGANO, TAKASHI;  
NAKAMURA, MASATSUGU y  
SAKAMOTO, ASUKA**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 569 246 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

Diquafosol y ácido hialurónico o sales de los mismos para el tratamiento del ojo seco

**Campo técnico**

5 La presente invención se refiere a un agente para el tratamiento del ojo seco caracterizado por comprender una combinación de un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-bis(5'-uridil)tetrafosfato (diquafosol), en una concentración terapéuticamente eficaz de 1 a 5% (p/v) y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz de 0,05 a 5% (p/v), en donde la forma de dosificación es un agente oftálmico. La presente invención también se refiere a un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-bis(5'-uridil)tetrafosfato (diquafosol), y ácido hialurónico o una sal del mismo para uso en el tratamiento del ojo seco. La presente invención también se refiere al uso del agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-bis(5'-uridil)tetrafosfato (diquafosol) y ácido hialurónico o una sal del mismo para fabricar un agente para el tratamiento del ojo seco.

**Antecedentes de la técnica**

15 El ojo seco es una enfermedad que se inicia con niveles desagradables de síntomas de sequedad de ojos y una sensación incómoda en los ojos, e impide en gran medida que las personas realicen sus actividades diarias cuando la enfermedad empeora. El número de pacientes de ojo seco está aumentando anualmente en asociación con la llegada de una sociedad que envejece y el aumento en trabajos con VDT (terminales de pantallas de vídeo) con ordenadores personales. Se cree que el número estimado de pacientes de ojo seco es mayor que o igual a 10.000.000 en Estados Unidos y mayor que o igual a 8.000.000 en Japón.

20 Aunque las condiciones clínicas del ojo seco no están elucidadas completamente, se considera que la disminución en el volumen de lágrima en la córnea y la conjuntiva, que es causada por la disminución de la secreción de lágrima, la aceleración de la evaporación de la lágrima y similares, es la principal patogénesis del ojo seco. Esto es, la sequedad de la córnea y la conjuntiva asociada con la disminución en el volumen de la lágrima induce síntomas y/o observaciones patológicos que incluyen una incomodidad ocular, una sensación de sequedad de los ojos, una sensación de fatiga de los ojos, hiperemia y trastornos epiteliales queratoconjuntivales. Si estos síntomas y/o observaciones progresan, aparece en última instancia una anomalía en la visión. Por lo tanto, es muy importante tratar el ojo seco apropiadamente en una fase temprana.

25 Se cree que el aspecto más deseado para los métodos de tratamiento para el ojo seco es promover la secreción de lágrima en un paciente de ojo seco. Sin embargo, no se conoce ningún agente para el tratamiento del ojo seco que tenga tal actividad. Entonces, en el tratamiento convencional del ojo seco, se selecciona generalmente la administración de una solución oftálmica de lágrima artificial, la supresión de la excreción de lágrima con un tapón lacrimal o similares.

30 Como agente para el tratamiento del ojo seco, se ha usado generalmente una solución oftálmica que contiene ácido hialurónico. Aunque el ácido hialurónico no tiene una acción de promoción de la secreción de lágrima, se describe en Cornea, 12(5), 433-436 (1993) (NPL 1) que, cuando el ácido hialurónico retiene múltiples moléculas de agua de la misma, el ácido hialurónico puede exhibir una excelente propiedad de retención de agua. Aunque hay varias teorías sobre el mecanismo de acción de una solución oftálmica que contiene ácido hialurónico para el tratamiento del ojo seco, se cree que la propiedad de retención de agua del ácido hialurónico puede mitigar el secado de la córnea y la conjuntiva.

35 Por otra parte, un receptor P2Y<sub>2</sub> es uno de los subtipos de un receptor P2Y que es un receptor de purina y se cree que está profundamente implicado en la regulación de la secreción de un ión cloruro o similar. Se considera que un ligando para un receptor P2Y es un nucleótido en un cuerpo vivo, y se describe en Current Medicinal Chemistry, 13(3), 289-312 (2006) (NPL 2) que nucleótidos tipificados por uridina-5'-trifosfato (UTP), adenosina-5'-trifosfato (ATP) y derivados de los mismos, dinucleótidos tipificados por P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-bis-(5'-uridil)tetrafosfato (llamado también "diquafosol" o "INS-365") y similares pueden actuar como agonistas para un receptor de P2Y<sub>2</sub>.

40 En los últimos años, se encontró que estos agonistas del receptor P2Y<sub>2</sub> tienen una acción de promoción de la secreción de lágrima, y estos agonistas del receptor P2Y<sub>2</sub> están atrayendo la atención como nuevos agentes para el tratamiento del ojo seco. Por ejemplo, Current Eye Research, 21(4), 782-787 (2000) (NPL 3) describe que UTP y ATP pueden promover la secreción de lágrima en conejos, y por lo tanto se sugiere que la secreción de lágrima puede ser promovida estimulando un receptor de P2Y<sub>2</sub>. En Cornea, 23(8), 784-792 (2004) (NPL 4), se reporta que una solución oftálmica que contiene diquafosol promovió la secreción de lágrima y alivió trastornos epiteliales queratoconjuntivales en ensayos clínicos.

45 Sin embargo, hay aún algunos pacientes de ojo seco grave que no pueden ser tratados satisfactoriamente con los agentes para el tratamiento del ojo seco mencionados anteriormente, y por lo tanto se ha demandado el desarrollo de un agente para el tratamiento del ojo seco que tenga una acción de promoción de la secreción de lágrima más potente.

55 En la publicación de patente nacional japonesa N° 2001-504858 (PTL 1), se sugiere que se puede añadir ácido

5 hialurónico como aditivo a un promotor de la secreción de lágrima que contiene un compuesto capaz de activar un receptor de purina (receptor P2Y<sub>2</sub>). Sin embargo, como se menciona en el Dictionary of pharmaceutical additives, 220 (2007) (NPL 5), la cantidad más grande de ácido hialurónico que se puede usar como aditivo en un agente oftálmico es 0,2 mg/g (0,02% (p/p)), y no se describe ni sugiere que una concentración terapéuticamente eficaz (no menor que 0,1% (p/v) en términos de la concentración en una solución oftálmica) de ácido hialurónico y un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> se administren en combinación.

En este contexto, el documento US 2008/0009463 describe P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato (diquafosol) en concentraciones de 0,5%, 5,0% y 8,5% para el tratamiento del ojo seco. La solución tópica que contiene diquafosol puede contener vehículos oftálmicos que incluyen, entre otros, hialuronato de sodio.

10 Además, el documento Yokoi (Yokoi, N.; Medical Treatment in Ophthalmology - Trends 2008, Dry Eye; Journal of the Eye, 25(3); 2008; pp. 291-296) describe diquafosol (IN365) al 2% para el tratamiento del ojo seco. Además, dicho documento sugiere usar diquafosol con otra solución oftálmica para el tratamiento del ojo seco, tal como ácido hialurónico.

15 Como se indicó anteriormente, no se encuentra claramente qué efecto se puede conseguir cuando un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, diquafosol, y una concentración terapéuticamente eficaz de ácido hialurónico se usan en combinación.

### Lista de citaciones

#### Bibliografía de patentes

PTL 1: Publicación de patente nacional japonesa N° 2001-504858;

20 PTL 2: documento US 2008/0009463

#### Bibliografía no de patentes

NPL 1: Cornea, 12(5), 433-436 (1993)

NPL 2: Current Medicinal Chemistry, 13(3), 289-312 (2006)

NPL 3: Current Eye Research, 21(4), 782-787 (2000)

25 NPL 4: Cornea, 23(8), 784-792 (2004)

NPL 5: Dictionary of pharmaceutical additives, 220 (2007);

NPL 6: Journal of the eye, 291-296 (2008)

### Compendio de la invención

#### Problema técnico

30 Por tanto, la búsqueda de una composición mejorada para el tratamiento del ojo seco que tenga una acción de promoción de la secreción de lágrima más potente es un problema interesante.

#### Solución al problema

35 Los presentes inventores han hecho estudios intensivos y extensivos con el fin de buscar una composición mejorada para el tratamiento del ojo seco. Como resultado, se encontró que, cuando un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato (diquafosol), y una concentración terapéuticamente eficaz (0,1% y 0,3%) de ácido hialurónico o una sal del mismo se administraron en combinación a los ojos de conejos normales, se observó una notable promoción de la secreción de lágrima en los conejos. Este hallazgo condujo a la presente invención. Además, cuando un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato (diquafosol), y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz se administraron en combinación a los ojos, se observó un significativo efecto de mejoría sobre trastornos epiteliales corneales en modelos de ojo seco.

40 Al mismo tiempo, cuando un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato (diquafosol), y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración empleada para la adición como un aditivo (0,002%) se administraron en combinación a los ojos, la acción de promoción de la secreción de lágrima mencionada anteriormente no se observó. Haciendo referencia a este resultado, la consecución del efecto mencionado anteriormente es un resultado maravilloso.

45 Esto es, la presente invención proporciona un agente para el tratamiento del ojo seco (denominado también "presente agente de tratamiento" en lo sucesivo) caracterizado por comprender una combinación de un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato (diquafosol), en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz, en donde la forma de dosificación es

un agente oftálmico.

El agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en el agente para el tratamiento del ojo seco según la presente invención es preferiblemente P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato (denominado también "diquafosol", en lo sucesivo) o una sal del mismo.

- 5 La forma de dosificación del agente para el tratamiento del ojo seco según la presente invención es preferiblemente una solución oftálmica o una pomada oftálmica.

La presente invención también proporciona una solución oftálmica para tratar el ojo seco, caracterizada por comprender una combinación de diquafosol o una sal del mismo en una concentración de 1 a 5% (p/v) y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración de 0,05 a 0,5% (p/v).

- 10 La presente invención proporciona además una solución oftálmica para tratar el ojo seco, caracterizada por comprender una combinación de diquafosol o una sal del mismo en una concentración de 3% (p/v) y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración de 0,1 a 0,5% (p/v).

- 15 La presente invención proporciona también además un método para tratar el ojo seco, que comprende administrar diquafosol en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz en combinación a un paciente necesitado de ello, en donde la forma de dosificación es un agente oftálmico.

El agente oftálmico es preferiblemente una solución oftálmica o una pomada oftálmica.

- 20 La presente invención también proporciona diquafosol y ácido hialurónico o una sal del mismo para uso en el tratamiento del ojo seco administrando el agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz en combinación, en donde la forma de dosificación es un agente oftálmico.

También, en el diquafosol y el ácido hialurónico o una sal del mismo según la presente invención, el agente oftálmico es preferiblemente una solución oftálmica o una pomada oftálmica.

- 25 La presente invención proporciona también P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato o una sal del mismo y ácido hialurónico o una sal del mismo para uso en el tratamiento del ojo seco administrando P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato o una sal del mismo en una concentración de 1 a 5% (p/v) y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración de 0,05 a 0,5% (p/v) en combinación, en donde la forma de dosificación es una solución oftálmica.

- 30 La presente invención proporciona también P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato o una sal del mismo y ácido hialurónico o una sal del mismo para uso en el tratamiento del ojo seco administrando P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato o una sal del mismo en una concentración de 3% (p/v) y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración de 0,1 a 0,5% (p/v) en combinación, en donde la forma de dosificación es una solución oftálmica.

- 35 La presente descripción proporciona también el uso de diquafosol y ácido hialurónico o una sal del mismo para la producción de un agente para el tratamiento del ojo seco que comprende diquafosol en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz, en donde el agente para el tratamiento del ojo seco tiene una forma de dosificación de un agente oftálmico.

También, en el uso según la presente invención, el agente oftálmico es preferiblemente una solución oftálmica o una pomada oftálmica.

- 40 La presente invención también proporciona el uso de P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato o una sal del mismo y ácido hialurónico o una sal del mismo para fabricar un agente para el tratamiento del ojo seco que comprende P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato o una sal del mismo en una concentración de 1 a 5% (p/v) y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración de 0,05 a 0,5% (p/v).

- 45 La presente invención también proporciona el uso de P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato o una sal del mismo y ácido hialurónico o una sal del mismo para fabricar un agente para el tratamiento del ojo seco que comprende P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-di(uridina-5')tetrafosfato o una sal del mismo en una concentración de 3% (p/v) y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración de 0,1 a 0,5% (p/v).

### Efectos ventajosos de la invención

- 50 Como se menciona más adelante, el presente agente de tratamiento puede promover la secreción de lágrima notablemente y puede mejorar trastornos epiteliales corneales notablemente, y por lo tanto se espera que sea un nuevo agente para el tratamiento del ojo seco. Además, se proporcionan diquafosol y ácido hialurónico o una sal del mismo para uso en el tratamiento del ojo seco, y el uso de diquafosol y ácido hialurónico o una sal del mismo para fabricar un agente para el tratamiento del ojo seco.

**Breve descripción de los dibujos**

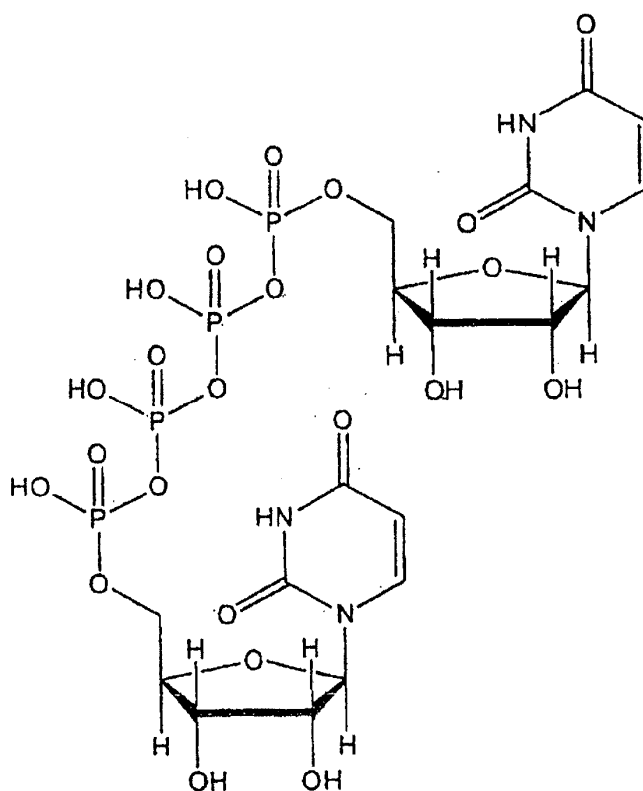
La Fig.1 es un gráfico que ilustra el transcurso de tiempo de un cambio en el valor del área del menisco lacrimal después de la administración de los fármacos de ensayo a los ojos.

5 La Fig. 2 es un gráfico que ilustra un cambio en las puntuaciones de la tinción con fluoresceína de la córnea antes y después de la administración de los fármacos de ensayo a los ojos.

**Descripción de realizaciones**

10 El agente para el tratamiento del ojo seco según la presente invención se caracteriza en gran medida por comprender una combinación de una concentración terapéuticamente eficaz de diquafosol y una concentración terapéuticamente eficaz de ácido hialurónico o una sal del mismo. Según la presente invención, se proporcionan también diquafosol y ácido hialurónico o una sal del mismo para uso en el tratamiento del ojo seco, y el uso de diquafosol y ácido hialurónico o una sal del mismo para fabricar un agente para el tratamiento del ojo seco.

El compuesto reivindicado ahora es:



P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-bis(5'-uridil)tetrafosfato (Diquafosol)

15 Un compuesto que es particularmente preferido como agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> según la presente invención es diquafosol o una sal del mismo.

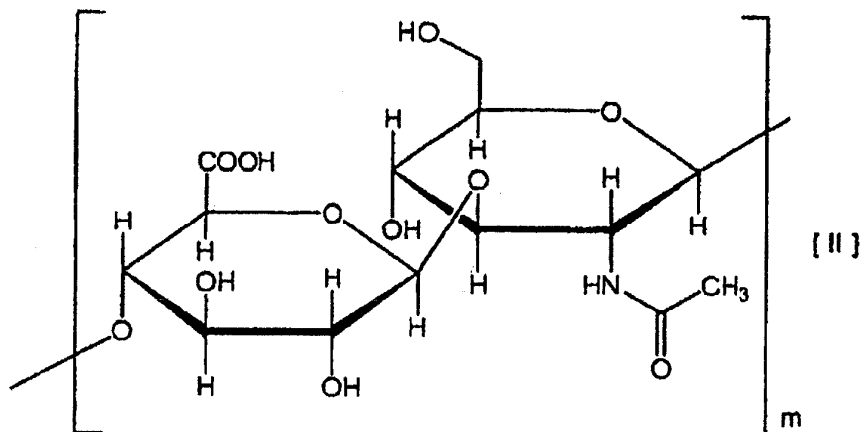
Un compuesto que es el más preferido como agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> según la presente invención es diquafosol o una sal del mismo.

20 El presente compuesto puede ser producido de acuerdo con métodos convencionales que han sido empleados en el campo de la química orgánica sintética, tales como los métodos descritos en *Nucleic acids research*, 15(8), 3573-3580 (1987) y *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11(2), 157-160 (2001). Alternativamente, se pueden usar como el presente compuesto compuestos disponibles en el mercado, tales como productos fabricados y vendidos por Sigma.

25 Entre los ejemplos de los presentes compuestos, particularmente el diquafosol y una sal del mismo pueden ser producidos por el método descrito en la publicación de patente nacional japonesa N° 2001-510484. Están disponibles en el mercado en Sigma una sal de sodio de UTP (N° de catálogo: U6625), una sal de sodio de ATP (N° de catálogo: A7699), una sal de litio de ATPγS (N° de catálogo: A1388) y similares.

El ácido hialurónico a ser usado en el agente para el tratamiento del ojo seco según la presente invención es un compuesto representado por la siguiente fórmula general [II]:

[Fórmula química 47]



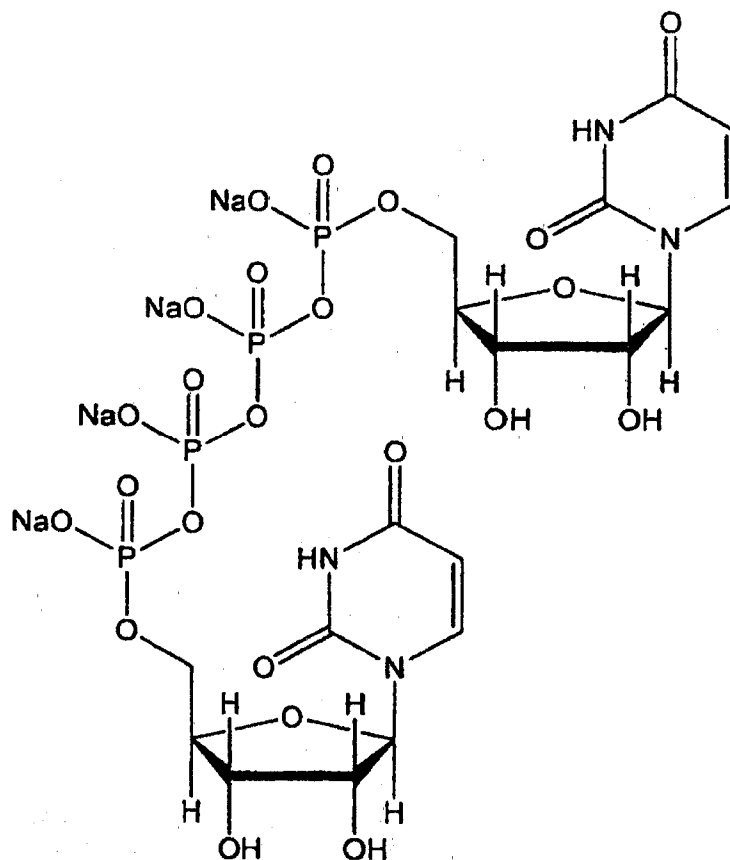
[en donde m representa un número natural].

5 El "ácido hialurónico" a ser usado en la presente invención es preferiblemente ácido hialurónico que tiene un peso molecular medio de 500.000 a 3.900.000, más preferiblemente ácido hialurónico que tiene un peso molecular medio de 500.000 a 1.200.000.

La sal del presente compuesto o ácido hialurónico no está limitada particularmente, siempre y cuando la sal sea una sal farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de la sal incluyen: sales con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico; sales con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido adípico, ácido glucónico, ácido glucoheptónico, ácido glucurónico, ácido tereftálico, ácido metanosulfónico, ácido láctico, ácido hipúrico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido isetiónico, ácido lactobiónico, ácido oleico, ácido pamoico, ácido poligalacturónico, ácido esteárico, ácido tánico, ácido trifluorometanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, éster laurílico del ácido sulfúrico, sulfato de metilo, ácido naftalenosulfónico y ácido sulfosalicílico; sales de amonio cuaternario con bromuro de metilo y yoduro de metilo; sales con iones de halógeno tales como un ión de bromo, un ión de cloro y un ión de yodo; sales con metales alcalinos tales como litio, sodio y potasio; sales con metales alcalinotérreos tales como calcio y magnesio; sales de metales con hierro, cinc y similares; sales con amoniaco; y sales con aminas orgánicas tales como trietilendiamina, 2-aminoetanol, 2,2-iminobis(etanol), 1-desoxi-1-(metilamino)-2-D-sorbitol, 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol, procaína y N,N-bis(fenilmetil)-1,2-etanodiamina.

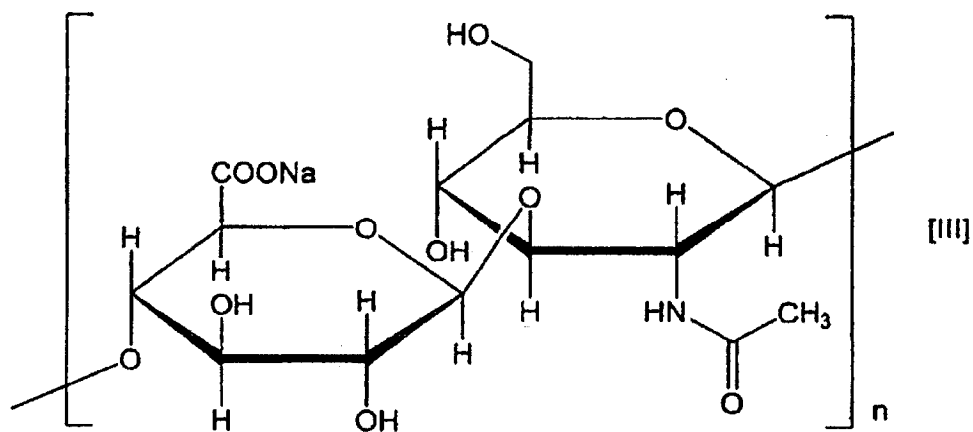
Como sales del presente compuesto o ácido hialurónico, se prefieren sales de sodio. Particularmente, cuando el presente compuesto es diquafosol, se prefiere una sal de tetrasodio de diquafosol que se representa por la siguiente fórmula (denominada simplemente "diquafosol sodio", en lo sucesivo).

[Fórmula química 48]



Como sal de sodio del ácido hialurónico, se prefiere particularmente una sal de sodio representada por la siguiente fórmula general [III] (denominada también "hialuronato de sodio", en lo sucesivo):

5 [Fórmula química 49]



[en donde n representa un número natural].

El presente compuesto, ácido hialurónico o una sal del mismo puede tener la forma de un hidrato o un solvato.

10 Cuando el presente compuesto o ácido hialurónico tiene un isómero geométrico o un isómero óptico, el isómero o una sal del mismo está incluido también dentro del alcance de la presente invención. Cuando el presente compuesto o ácido hialurónico tiene un tautómero de protón, el tautómero o una sal del mismo está incluido también dentro del alcance de la presente invención.

Cuando el presente compuesto, ácido hialurónico o una sal del mismo, un hidrato o un solvato tiene un polimorfismo

5 cristalino o un grupo de polimorfismo cristalino (un sistema de polimorfismo cristalino), el polimorfismo cristalino y el grupo de polimorfismo cristalino (el sistema de polimorfismo cristalino) están incluidos también dentro del alcance de la presente invención. El término “grupo de polimorfismo cristalino (un sistema de polimorfismo cristalino)”, como se emplea en la presente memoria, se refiere a las formas cristalinas individuales en las etapas individuales de cambio de las formas cristalinas y todo el proceso dependiendo de la condición y estado de producción, cristalización y conservación del cristal (este estado incluye el estado formulado).

10 El ácido hialurónico y una sal del mismo pueden ser producidos de acuerdo con métodos convencionales empleados en el campo de la química orgánica sintética, o pueden ser producidos de acuerdo con el método descrito en la solicitud de patente japonesa abierta a consulta por el público N° 1-115902. El ácido hialurónico y una sal del mismo a ser usado en la presente invención puede ser un producto disponible en el mercado fabricado y vendido por Sigma o similar. Por ejemplo, está disponible en el mercado una sal de sodio de ácido hialurónico (N° de catálogo: H5388) en Sigma.

15 En la presente invención, el término “caracterizado por comprender una combinación de un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz” se refiere a un aspecto de que un agente oftálmico mixto que comprende un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz es administrado en una sola vez, y también se refiere a un aspecto de que un agente oftálmico que comprende un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y un agente oftálmico que comprende ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz son administrados por separado y secuencialmente.

20 En la presente invención, el término “concentración terapéuticamente eficaz” se refiere a una concentración en la que un agente medicinal exhibe la acción farmacológica del mismo en un ojo cuando el agente medicinal es administrado por vía tópica al ojo.

25 En la presente invención, la “concentración terapéuticamente eficaz” específica del agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> puede variar dependiendo de los tipos de los compuestos a ser seleccionados como agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, las formas de dosificación del presente agente de tratamiento o similares. Por ejemplo, cuando el agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> es diquafosol o una sal del mismo, la concentración terapéuticamente eficaz es 0,01 a 20% (p/v), preferiblemente 0,3 a 10% (p/v), más preferiblemente 1 a 5% (p/v) cuando se selecciona una solución oftálmica como forma de dosificación, y es 0,01 a 20% (p/p), preferiblemente 0,3 a 10% (p/p), más preferiblemente 1 a 5% (p/p), aún más preferiblemente 3% (p/p) cuando se selecciona una pomada oftálmica como forma de dosificación.

30 En la presente invención, la “concentración terapéuticamente eficaz” específica del ácido hialurónico o una sal del mismo es 0,05 a 5% (p/v), preferiblemente 0,05 a 1% (p/v), más preferiblemente 0,05 a 0,5% (p/v), aún más preferiblemente 0,1 a 0,5% (p/v) cuando se selecciona una solución oftálmica como forma de dosificación, y es 0,05 a 10% (p/p), preferiblemente 0,05 a 5% (p/p), más preferiblemente 0,05 a 1% (p/p), aún más preferiblemente 0,1 a 0,5% (p/p) cuando se selecciona una pomada ocular como forma de dosificación.

35 Las concentraciones de “diquafosol o una sal del mismo” o “ácido hialurónico o una sal del mismo” en la presente invención pueden ser la concentración de una forma libre o una sal de diquafosol o ácido hialurónico.

40 En la presente invención, “ojo seco” se define como “una enfermedad crónica que aparece en la lágrima y un epitelio corneal y conjuntival causada por diversos factores, que es acompañada por una incomodidad ocular y trastorno visual”. El ojo seco en la presente invención incluye queratoconjuntivitis seca (KCS), y también incluye tanto ojo seco deficiente en lágrima como ojo seco evaporativo.

45 El ojo seco deficiente en lágrima se clasifica en ojo seco asociado con el síndrome de Sjogren y ojo seco de tipo no de síndrome de Sjogren. El ojo seco de tipo no de síndrome de Sjogren incluye: ojo seco asociado con una enfermedad de la glándula lacrimal tal como alacrima congénita, sarcoidosis y enfermedad de injerto frente a huésped (GVHD, por sus siglas en inglés) asociada con trasplante de médula ósea; ojo seco asociado con obstrucción del órgano lacrimal causada por pénfigo ocular, síndrome de Stevens-Johnson, tracoma o similar; ojo seco asociado con la disminución en la secreción lacrimal refleja causada por diabetes, cirugía queratorrefractiva (LASIK: queratomileusis in situ asistida por láser) o similar; etcétera.

50 El ojo seco evaporativo incluye ojo seco asociado con la disminución en una capa oleosa causada por disfunción de la glándula meibomiana, blefaritis o similar; ojo seco asociado con parpadeo incompleto o cierre del párpado incompleto causado por exoftalmos, lagofthalmos o similar; ojo seco asociado con deterioro de la estabilidad de la lágrima inducido por el uso de lentes de contacto; ojo seco asociado con la disminución en la secreción de mucina desde una célula caliciforme; ojo seco asociado con operaciones VDT; etcétera.

55 En la presente invención, el término “tratamiento del ojo seco” se define como la mejora de todos los síntomas y/o observaciones patológicos asociados con el ojo seco mediante la promoción de la secreción de lágrima o similar, e incluye la mejora de síntomas subjetivos asociados con el ojo seco, tales como una sensación de sequedad de los ojos, una incomodidad ocular, una sensación de fatiga en los ojos, una sensación de pesadez, una sensación de fotofobia, dolor ocular y visión borrosa (visión brumosa), así como la mejora de la hiperemia asociada con el ojo



seco, trastornos epiteliales queratoconjuntivales, etcétera.

El presente agente de tratamiento puede ser formulado como un agente oftálmico mixto mezclando entre sí el agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, ácido hialurónico o una sal del mismo, y un aditivo farmacéuticamente aceptable, y empleando una técnica usada generalmente. Alternativamente, se puede añadir un aditivo farmacéuticamente aceptable al agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> o al ácido hialurónico o una sal del mismo, respectivamente, y las mezclas resultantes pueden ser formuladas como agentes oftálmicos de entidad única usando una técnica usada generalmente.

Se puede preparar una solución oftálmica que comprende sólo diquafosol o una sal del mismo como ingrediente activo de acuerdo con el método descrito en la publicación de patente nacional japonesa N° 2003-160491. En Japón, está disponible en el mercado "DIQUAS<sup>®</sup> solución oftálmica 3%", que contiene sólo diquafosol sodio como ingrediente activo en una concentración de 0,3% (p/v). Además, en Japón, también están disponibles en el mercado soluciones oftálmicas que contienen sólo ácido hialurónico o una sal del mismo como ingrediente activo, tales como "Hyalein<sup>®</sup> solución oftálmica 0,1%", que contiene sólo hialuronato de sodio como ingrediente activo en una concentración de 0,1% (p/v), y "Hyalein<sup>®</sup> Mini solución oftálmica 0,3%", que contiene sólo hialuronato de sodio como ingrediente activo en una concentración de 0,3% (p/v).

En la presente invención, el presente agente de tratamiento se administra por vía tópica a los ojos. Ejemplos del modo de administración del presente agente de tratamiento incluyen instilación ocular (que incluye administración tópica a los ojos en la forma de una pomada oftálmica), administración subconjuntival, administración al saco conjuntival y administración subtenon, y se prefiere particularmente la instilación ocular.

En la presente invención, la forma de dosificación del "agente oftálmico" no está limitada particularmente, siempre y cuando el agente se pueda usar para administración tópica a los ojos. Ejemplos de la forma de dosificación incluyen una solución oftálmica, una pomada oftálmica, una inyección, un parche adhesivo, un gel y un agente de intercalación. Entre estas formas de dosificación, se prefiere una solución oftálmica o una pomada ocular. Las formas de dosificación se pueden preparar usando técnicas convencionales que han sido empleadas generalmente en la técnica. Además de estas preparaciones, el presente agente de tratamiento se puede formular en una preparación para implante intraocular o una preparación que se modifica para que sea adecuada para un sistema de entrega de fármacos (DDS, por sus siglas en inglés) tal como una microesfera.

La solución oftálmica se puede preparar usando aditivos que se seleccionan apropiadamente de agentes de tonicidad tales como cloruro de sodio, cloruro de potasio y glicerina concentrada; agentes amortiguadores tales como fosfato de sodio, acetato de sodio y ácido épsilon-aminocaproico; tensioactivos tales como monooleato de polioxietilensorbitán, estearato de polioxil 40 y aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno; agentes estabilizantes tales como citrato de sodio y edetato de sodio; y agentes conservantes tales como cloruro de benzalconio y parabeno según se requiera. El valor de pH de la solución oftálmica puede ser cualquiera, siempre que el valor de pH caiga dentro del intervalo oftálmicamente aceptable, y se prefiere generalmente 4 a 8.

La pomada ocular se puede preparar usando un vehículo que ha sido usado generalmente, tal como vaselina blanca y parafina líquida.

La inyección se puede preparar usando un aditivo que se selecciona apropiadamente de agentes de tonicidad tales como cloruro de sodio; agentes amortiguadores tales como fosfato de sodio; tensioactivos tales como monooleato de polioxietilensorbitán; y agentes espesantes tales como metilcelulosa según se requiera.

El agente de intercalación se puede preparar pulverizando y mezclando un polímero biodegradable tal como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, un polímero de carboxivinilo o poli(ácido acrílico) con el presente compuesto y comprimiendo y moldeando el polvo resultante, en donde se puede usar un excipiente, un aglutinante, un agente estabilizante, un agente de ajuste del pH o similares, si fuera necesario.

La preparación para implante intraocular se puede preparar usando un polímero biodegradable tal como poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), un copolímero de ácido láctico-ácido glicólico o hidroxipropilcelulosa.

En la presente invención, el régimen de dosis del presente agente de tratamiento puede variar apropiadamente dependiendo de la forma de dosificación empleada, la gravedad de la afección, la edad y peso corporal de un paciente al que se va a administrar el presente agente de tratamiento, las directrices de un médico, y similares. Por ejemplo, cuando se selecciona una solución oftálmica o una pomada oftálmica como forma de dosificación del presente agente de tratamiento, la solución oftálmica o la pomada oftálmica puede ser administrada por vía tópica a los ojos en 1 a 10 dosis divididas por día, preferiblemente 2 a 8 dosis divididas por día, más preferiblemente 4 a 6 dosis divididas por día. El régimen de dosificación significa el régimen de dosificación para una preparación oftálmica mixta que comprende el agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz, así como el régimen de dosificación para un caso en el que un agente oftálmico que comprende el agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz son administrados por separado y secuencialmente.

En lo sucesivo, se muestran los resultados de ensayos farmacológicos y ejemplos de preparación.

### Ejemplos

[Ensayo farmacológico 1]

5 El cambio en el volumen de fluido lacrimal puede ser evaluado midiendo el valor de un área del menisco lacrimal teñido con una solución de fluoresceína (Exp. Eye. Res., 78(3), 399-407 (2004)). Después, el transcurso de tiempo de un cambio en el valor del área del menisco lacrimal después de la administración secuencial de diquafosol sodio, que es un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub>, y hialuronato de sodio a los ojos fue evaluado de acuerdo con el método de Murakami et al. (Ophthalmic Res., 34, 371-374 (2002)), usando conejos blancos macho normales.

(Método de preparación del fármaco)

10 Se disolvió diquafosol sodio (30 mg) en una solución de tampón fosfato, y se añadieron cloruro de potasio, cloruro de sodio, cloruro de benzalconio y un agente de ajuste del pH a la solución resultante para preparar una solución acuosa isotónica y neutra (1 ml), que se usó como una solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% en este ensayo. Como solución de lágrima artificial, se usó "Soft Santear, 0,1%" fabricado y vendido por Santen Pharmaceutical Co., Ltd. Como solución oftálmica de hialuronato de sodio, se usó "Hyalein<sup>®</sup> solución oftálmica 0,1%", fabricado y vendido por Santen Pharmaceutical Co., Ltd.

(Método de ensayo y método de administración del fármaco)

20 Se administró una solución de fluoresceína al 0,1% (3  $\mu$ l) sobre un menisco lacrimal del párpado inferior de cada uno de conejos blancos macho normales (40 ojos de 20 conejos en total), y se tomó una fotografía del menisco lacrimal que estaba teñido con fluoresceína acumulada en el párpado. El área de la parte del menisco lacrimal teñido en la fotografía se calculó usando un programa informático de análisis de imágenes, y el valor resultante se empleó como línea de base. Posteriormente, se administraron una solución de lágrima artificial, una solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% y una solución oftálmica de ácido hialurónico al 0,1% como sigue.

- Grupo de administración única de solución de lágrima artificial: la solución de lágrima artificial (50  $\mu$ l) fue instilada en los ojos una vez (ocho ojos de cuatro conejos por grupo).
- 25 • Grupo de administración única de diquafosol: una solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% (50  $\mu$ l) fue instilada en los ojos una vez (ocho ojos de cuatro conejos por grupo).
- Grupo de administración única de ácido hialurónico: la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,1% (50  $\mu$ l) fue instilada en los ojos una vez (ocho ojos de cuatro conejos por grupo).
- 30 • Grupo de administración en combinación de diquafosol/solución de lágrima artificial: Cinco minutos después de la administración de la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% (50  $\mu$ l) en los ojos, se instiló en los ojos la solución de lágrima artificial (50  $\mu$ l) (ocho ojos de cuatro conejos por grupo).
- Grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico: Cinco minutos después de la administración de la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% (50  $\mu$ l) en los ojos, se instiló en los ojos la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,1% (50  $\mu$ l) (ocho ojos de cuatro conejos por grupo).

35 Con respecto al grupo de administración única de solución de lágrima artificial, el grupo de administración única de diquafosol y el grupo de administración única de ácido hialurónico, 10 minutos y 35 minutos después de la administración, se instiló una solución de fluoresceína al 0,1% (3  $\mu$ l) sobre un menisco lacrimal del párpado inferior, y se tomó una fotografía del menisco lacrimal teñido con fluoresceína acumulada en el párpado. Por otra parte, con respecto al grupo de administración en combinación de diquafosol/solución de lágrima artificial y el grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico, 10 minutos y 35 minutos después de la administración del primer agente, se realizó el mismo procedimiento que para los grupos administrados cada uno con un único agente.

(Método de evaluación)

45 El cambio en el área del menisco lacrimal antes y después de la administración de cada uno de los fármacos se calculó como "valor  $\Delta$  del área del menisco lacrimal". El valor  $\Delta$  del área del menisco lacrimal en cada valor de medida se muestra en la Fig. 1. En la Fig. 1, cada valor es un valor medio  $\pm$  un error estándar con respecto a 8 ejemplos.

(Resultados)

50 En el grupo de administración única de diquafosol, se observó un aumento en el valor del área del menisco lacrimal tanto 10 minutos como 35 minutos después de la administración. Por el contrario, en el grupo de administración única de ácido hialurónico, se observó un ligero aumento 10 minutos después de la administración y no se observó un aumento en el valor del área del menisco lacrimal 35 minutos después de la administración. Por otra parte, con

respecto al grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico, se observó un aumento en el valor del área del menisco lacrimal en un mayor grado que el del grupo de administración única de diquafosol o el grupo de administración única de ácido hialurónico tanto 10 minutos como 35 minutos después de la administración (es decir, 5 minutos y 30 minutos después de la administración del segundo agente). Con respecto al grupo de

5

(Discusión)

Como se mencionó en la sección "Antecedentes de la técnica", el ácido hialurónico no tiene una acción de promoción de la secreción de lágrima. En realidad, la solución oftálmica de ácido hialurónico al 0,1% no aumentó el valor del área del menisco lacrimal en absoluto 35 minutos después de la administración. No obstante, cuando la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% y la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,1% fueron administradas en combinación, sorprendentemente, se observó un gran aumento en el valor del área del menisco lacrimal en un periodo entre 10 minutos después de la administración del primer agente y 35 minutos después de la administración del primer agente en comparación con el conseguido por las administraciones únicas de cada una de las soluciones oftálmicas. En otras palabras, se considera que, cuando la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% y la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,1% son administradas en combinación, se observó un nivel notablemente mayor de promoción de la secreción de lágrima que la suma total de los conseguidos por administraciones únicas de cada una de las soluciones oftálmicas. Como se indicó anteriormente, se sugirió que se puede conseguir una notable acción de promoción de la secreción de lágrima cuando un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz son administrados en combinación.

10

15

20

[Ensayo farmacológico 2]

Se ha usado generalmente un modelo de rata de la que se extirpa una glándula lacrimal exorbital de la misma como modelo para evaluar efectos terapéuticos sobre trastornos epiteliales corneales inducidos por el ojo seco, y se ha usado también como modelo para evaluar efectos terapéuticos de agonistas del receptor P2Y<sub>2</sub> (Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 42(1), 96-100 (2001)). Usando un modelo de ojo seco que se aplica adicionalmente con corriente de aire al modelo de rata, se examinó si se podía conseguir o no un efecto de mejora sobre trastornos epiteliales corneales mediante la administración de un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz en combinación.

25

30

(Método para producir modelos de ojo seco)

Usando una rata SD macho, se produjo un modelo de rata del que se extirpó una glándula lacrimal exorbital de la misma de acuerdo con el método de Fujihara et al. (Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 42(1), 96-100 (2001)). Esto es, se administró somnopentilo a la rata para dar anestesia general, se extirpó una glándula lacrimal exorbital de la rata, y después se aplicó adicionalmente corriente de aire (durante 8 semanas) a la rata para inducir un trastorno epitelial corneal.

35

(Método de preparación del fármaco)

De la misma manera que en el Ensayo farmacológico 1, se preparó una solución oftálmica de diquafosol sodio al 3%. Se usó "Soft Santear", fabricado y vendido por Santen Pharmaceutical Co., Ltd. como solución de lágrima artificial, y se usó "Hyalain<sup>®</sup>" solución oftálmica 0,1%, fabricado y vendido por Santen Pharmaceutical Co., Ltd. como "solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,1%".

40

(Método de ensayo y método de administración del fármaco)

A las ratas para las que se indujo un trastorno epitelial corneal, se administraron la solución de lágrima artificial, la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% y la solución oftálmica de ácido hialurónico al 0,1% de la siguiente manera.

45

- Grupo de administración única de solución de lágrima artificial: la solución de lágrima artificial (5 µl) fue instilada en ambos ojos 6 veces por día durante 6 semanas (ocho ojos de cuatro ratas por grupo).
- Grupo de administración única de ácido hialurónico: la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,1% (5 µl) fue instilada en ambos ojos 6 veces por día durante 6 semanas (ocho ojos de cuatro ratas por grupo).
- Grupo de administración única de diquafosol: la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% (5 µl) fue instilada en ambos ojos 6 veces por día durante 6 semanas (ocho ojos de cuatro ratas por grupo).
- Grupo de administración en combinación de solución de lágrima artificial/ácido hialurónico: la solución de lágrima artificial y la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,1% (5 µl para cada una) fueron instiladas en ambos ojos 6 veces por día durante 6 semanas (seis ojos de tres ratas por grupo).

50

- Grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico: la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% y la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,1% fueron instiladas en ambos ojos 6 veces por día durante 6 semanas (ocho ojos de cuatro ratas por grupo).

5 Entre las ratas para las que se indujo un trastorno epitelial corneal, las ratas a las que no se les administró fármaco durante 6 semanas se definieron como grupo no administrado (ocho ojos de cuatro ratas por grupo).

10 Seis semanas después del inicio de la instilación en los ojos, una parte afectada de la córnea se tiñó con fluoresceína, y se determinó la aparición del trastorno epitelial corneal de acuerdo con el método de Murakami et al. (Journal of the Eye (Atarashii Ganka), 21(1), 87-90 (2004)). Esto es, con respecto a cada una de una parte superior, una parte intermedia y una parte inferior de la córnea, se determinaron puntuaciones del grado de tinción con fluoresceína de acuerdo con los criterios mencionados a continuación, y se calculó el valor medio de la suma total de las puntuaciones. En cada una de las puntuaciones 0, 1, 2 y 3, se fijó un valor intermedio 0,5.

(Criterios de determinación)

0: no teñido

1: escasamente teñido, en donde partes teñidas con forma de punto estaban distanciadas unas de otras

15 2: el grado de tinción fue moderado, en donde algunas de las partes teñidas con forma de punto estaban adyacentes unas a otras

3: densamente teñido, en donde las partes teñidas con forma de punto estaban adyacentes unas a otras

(Resultados)

20 En la Fig. 2 se muestra un gráfico de puntuaciones de tinción con fluoresceína calculadas para cada grupo. En este gráfico, cada una de las puntuaciones es un valor medio  $\pm$  un error estándar para 6 o 8 ejemplos.

25 Como es evidente a partir de la Fig. 2, en el grupo de administración única de ácido hialurónico y el grupo de administración única de diquafosol, aunque se observó la tendencia de mejora en las puntuaciones de tinción con fluoresceína, la mejora que puede ser considerada como estadísticamente significativa no se observó. Por otra parte, en el grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico, se observó una notable mejora en las puntuaciones de tinción con fluoresceína, en donde el efecto de mejora fue estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ , test múltiple de Tukey (cuando se compara con el grupo no administrado)).

(Discusión)

30 Como es evidente a partir de los resultados mencionados anteriormente, se demostró que un trastorno epitelial corneal grave que no puede ser tratado por la administración única de cada una de las soluciones oftálmicas puede ser mejorado por la administración de la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% y la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,1% en combinación. En otras palabras, se espera que la administración de un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz en combinación tenga un excelente efecto terapéutico sobre el ojo seco asociado con trastornos epiteliales corneales graves.

35 [Ensayo farmacológico 3]

40 Con el fin de examinar si se observa o no un aumento en los valores del área del menisco lacrimal cuando un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz se combina con ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración que se emplea como aditivo, el transcurso de tiempo de un cambio en el valor del área del menisco lacrimal después de la instilación ocular secuencial del diquafosol sodio al 3% y el hialuronato de sodio al 0,002% se evaluó de la misma manera que en el ensayo farmacológico 1.

(Método de preparación del fármaco)

45 Se preparó una solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% de la misma manera que en el Ensayo farmacológico 1 mencionado anteriormente. Se preparó una solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,002% diluyendo "Hyalein<sup>®</sup> solución oftálmica 0,3%", fabricado y vendido por Santen Pharmaceutical Co., Ltd. con suero salino fisiológico.

(Método de ensayo y método de administración del fármaco)

50 Con respecto a conejos blancos macho normales (24 ojos de 12 conejos en total), se tomó una fotografía de un menisco lacrimal antes de la administración de un fármaco de la misma manera que en el Ensayo farmacológico 1. Posteriormente, la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% y la solución oftálmica de ácido hialurónico al 0,002% se administraron de la siguiente manera y se tomó de nuevo una fotografía del menisco lacrimal 35 minutos después de la administración.

- Grupo de administración única de diquafosol: la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% (50 µl) se instiló en los ojos una vez (ocho ojos de cuatro conejos por grupo).
  - Grupo de administración única de ácido hialurónico: la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,002% (50 µl) se instiló en los ojos una vez (ocho ojos de cuatro conejos por grupo).
- 5 • Grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico: Cinco minutos después de la instilación de la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% (50 µl) en los ojos, se instiló en los ojos la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,002% (50 µl) (ocho ojos de cuatro conejos por grupo).

(Resultados)

10 El cambio en el área del menisco lagrimal antes y después de la administración de cada uno de los fármacos se calculó como “valor Δ del área del menisco lagrimal”. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

[Tabla 1]

Grupos	valor Δ del área del menisco lagrimal (mm <sup>2</sup> )
Grupo de administración única de ácido hialurónico	-0,497
Grupo de administración única de diquafosol	1,127
Grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico	0,928

(Discusión)

15 Como es evidente a partir de la Tabla 1, en el grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico, aunque se observó un aumento en los valores del área del menisco lagrimal en un mayor grado que el del grupo de administración única de ácido hialurónico, la acción fue igual a o menor que la del grupo de administración única de diquafosol. En otras palabras, se demostró que la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,002% no promovió en absoluto la acción de secreción de lágrima de la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3%.

20 Como se mencionó anteriormente, se demostró que se consigue una notable acción de promoción de la secreción de lágrima cuando un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz se administran en combinación (véase el Ensayo farmacológico 1), y que la acción no se observa cuando el agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración que se emplea como aditivo se administran en combinación.

[Ensayo farmacológico 4]

El transcurso de tiempo de un cambio en los valores del área del menisco lagrimal después de la instilación secuencial de diquafosol sodio al 3% y hialuronato de sodio al 0,3% en los ojos se evaluó de la misma manera que en el Ensayo farmacológico 1.

30 (Método de preparación del fármaco)

Se preparó una solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% de la misma manera que en el Ensayo farmacológico 1 mencionado anteriormente. Se usó “Hyalein<sup>®</sup> solución oftálmica 0,3%”, fabricado y vendido por Santen Pharmaceutical Co., Ltd. como solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,3%.

(Método de ensayo y método de administración del fármaco)

35 Con respecto a cada uno de conejos blancos macho normales (18 ojos de 9 conejos en total), se tomó una fotografía de un menisco lagrimal antes de la administración de cada uno de los fármacos de la misma manera que en el Ensayo farmacológico 1. Posteriormente, la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% y la solución oftálmica de ácido hialurónico al 0,3% se administraron de la siguiente manera, y se tomó de nuevo una fotografía del menisco lagrimal después de 35 minutos.

- 40 • Grupo de administración única de diquafosol: la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% (50 µl) se instiló en los ojos una vez (6 ojos de tres conejos por grupo).
- Grupo de administración única de ácido hialurónico: la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,3% (50 µl) se instiló en los ojos una vez (6 ojos de 3 conejos por grupo).

- Grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico: Cinco minutos después de la instilación de la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3% (50 µl) en los ojos, se instiló en los ojos la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,3% (50 µl) (6 ojos de 3 conejos por grupo).

(Resultados)

- 5 El cambio en el área del menisco lacrimal antes y después de la administración de cada uno de los fármacos se calculó como “valor  $\Delta$  del área del menisco lacrimal”. Los resultados se muestran den la Tabla 2.

[Tabla 2]

Grupos	valor $\Delta$ del área del menisco lacrimal (mm <sup>2</sup> )
Grupo de administración única de ácido hialurónico	0,559
Grupo de administración única de diquafosol	1,434
Grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico	3,373

(Discusión)

- 10 Como es evidente a partir de la Tabla 2, en el grupo de administración en combinación de diquafosol/ácido hialurónico, se confirmó un efecto superior en gran medida a la suma total del “valor  $\Delta$  del área del menisco lacrimal” observado en el grupo de administración única de ácido hialurónico o el grupo de administración única de diquafosol. En otras palabras, se encontró que la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,3% puede promover notablemente la acción de secreción de lágrima de la solución oftálmica de diquafosol sodio al 3%, como en el caso de la solución oftálmica de hialuronato de sodio al 0,1%.

15 Como se mencionó anteriormente, se confirmó de nuevo que se puede conseguir una notable acción de promoción de la secreción de lágrima cuando un agonista del receptor P2Y<sub>2</sub> en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz son administrados en combinación.

- 20 [Ejemplos de preparación]

Los fármacos de la presente invención serán descritos más específicamente con referencia a ejemplos de preparación. Sin embargo, la presente invención no está limitada a los ejemplos de preparación.

(Ejemplo de formulación 1: una solución oftálmica (la concentración de diquafosol sodio: 3% (p/v), la concentración de hialuronato de sodio: 0,1% (p/v))

- 25 En 100 ml:

diquafosol sodio	3,0 g
hialuronato de sodio	0,1 g
cloruro de sodio	0,9 g
hidrogenofosfato de sodio hidrato	c.s.

- 30 agua purificada esterilizada c.s.

El diquafosol sodio, hialuronato de sodio y los otros componentes se añaden a agua purificada esterilizada, y la mezcla resultante se mezcla completamente, preparando de este modo una solución oftálmica. Se puede preparar una solución oftálmica que tiene una concentración de diquafosol sodio de 0,5% (p/v), 1% (p/v) o 5% (p/v) y una concentración de hialuronato de sodio de 0,3% (p/v) o 0,5% (p/v) variando las cantidades de diquafosol sodio y hialuronato de sodio a ser añadidas.

- 35 (Ejemplo de formulación 2: una pomada oftálmica (la concentración de diquafosol sodio: 3% (p/p), la concentración de hialuronato de sodio: 0,1% (p/p))

En 100 g:

diquafosol sodio	3,0 g
------------------	-------

- 40 hialuronato de sodio 0,1 mg

## ES 2 569 246 T3

parafina líquida	10 mg
vaselina blanca	c.s.

5 El diquafosol sodio y el hialuronato de sodio se añaden a vaselina blanca y parafina líquida que son fundidas homogéneamente y la mezcla resultante se mezcla completamente y después se enfría gradualmente, preparando de este modo una pomada oftálmica. Se puede preparar una pomada oftálmica que tiene una concentración de diquafosol sodio de 0,5% (p/v), 1% (p/v) o 5% (p/v) y una concentración de hialuronato de sodio de 0,3% (p/v) o 0,5% (p/v) variando las cantidades de diquafosol sodio y hialuronato de sodio a ser añadidas.

### **Aplicabilidad industrial**

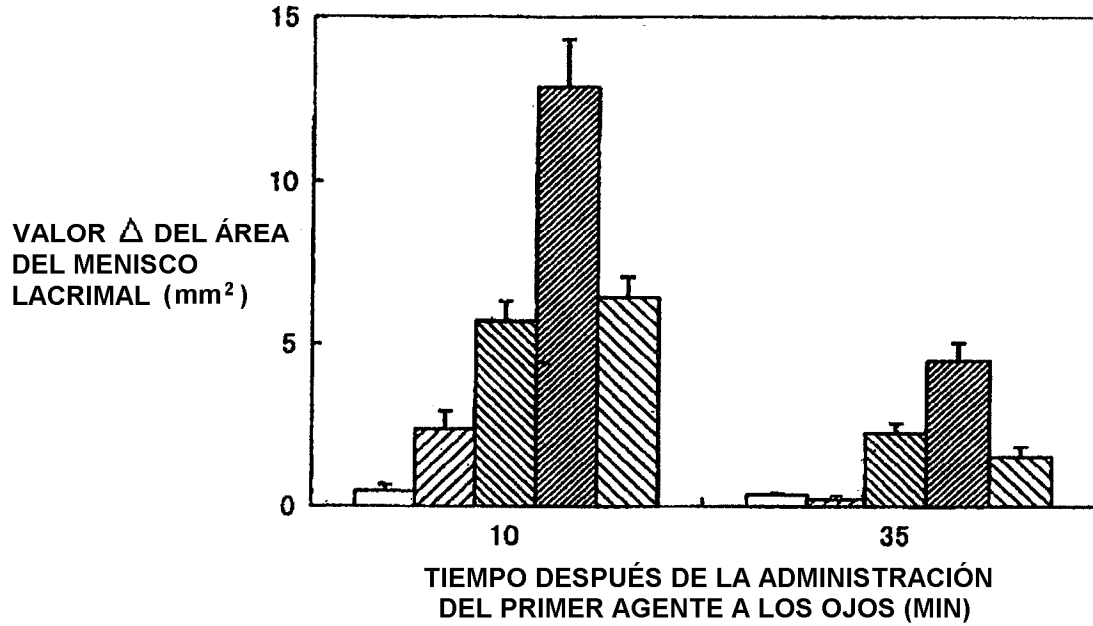
10 Un agente para el tratamiento del ojo seco caracterizado por comprender una combinación de diquafosol en una concentración terapéuticamente eficaz y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración terapéuticamente eficaz y que tiene una forma de dosificación de un agente oftálmico puede promover la secreción de lágrima notablemente y puede mejorar trastornos epiteliales corneales notablemente, y por lo tanto se espera que sea un nuevo agente para el tratamiento del ojo seco.

**REIVINDICACIONES**

1. Una solución oftálmica para uso en el tratamiento del ojo seco, caracterizada por comprender una combinación de P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-bis(5'-uridil)tetrafosfato o una sal del mismo en una concentración de 1 a 5% (p/v) y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración de 0,05 a 0,5% (p/v).
- 5 2. La solución oftálmica para uso según la reivindicación 1, caracterizada por comprender una combinación de P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-bis(5'-uridil)tetrafosfato o una sal del mismo en una concentración de 3% (p/v) y ácido hialurónico o una sal del mismo en una concentración de 0,1 a 0,5% (p/v).



FIG.1



- GRUPO DE ADMINISTRACIÓN ÚNICA DE SOLUCIÓN DE LÁGRIMA ARTIFICIAL
- ▨ GRUPO DE ADMINISTRACIÓN ÚNICA DE ÁCIDO HIALURÓNICO
- ▩ GRUPO DE ADMINISTRACIÓN ÚNICA DE DIQUAFOSOL
- ▧ GRUPO DE ADMINISTRACIÓN EN COMBINACIÓN DE DIQUAFOSOL/ ACIDO HIALURÓNICO
- ▦ GRUPO DE ADMINISTRACIÓN EN COMBINACIÓN DE DIQUAFOSOL/ SOLUCIÓN DE LÁGRIMA ARTIFICIAL

FIG.2

