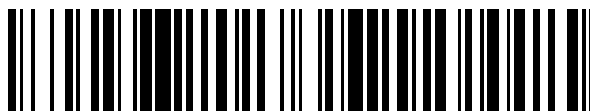


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 575 676**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)

A61K 47/40 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

A61P 31/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.01.2012** **E 12703722 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016** **EP 2804582**

54 Título: **Composición de colirio**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.06.2016

73 Titular/es:

ARATANA THERAPEUTICS NV (100.0%)

Ambachtenlaan 1

3001 Heverlee, BE

72 Inventor/es:

GORIS, NESYA;

NEYTS, JOHAN;

BLOMSMA, ERWIN;

WERA, STEFAAN;

BILLIET, AINO;

AUWERX, JOERI;

DEBEURME, VEERLE;

ROE, MARYLINE y

PUIG, PASCAL

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 575 676 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

Composición de colirio

Campo de la invención

La presente invención se refiere a una composición de colirio y al uso de la misma para el diagnóstico y tratamiento de infecciones oculares en animales.

Antecedentes de la invención

El diagnóstico de infecciones oculares en animales puede ser problemático. Por ejemplo, el diagnóstico del herpesvirus felino 1 (FHV-1) se basa típicamente en signos clínicos y en la presencia de ADN vírico confirmada por PCR. Sin embargo, el diagnóstico se complica por la aparición de resultados de PCR falsos negativos y por el hecho de que un resultado de PCR positivo puede reflejar también una diseminación vírica de nivel bajo o incluso una infección latente. Por lo tanto, a menudo, es imposible demostrar que los signos clínicos observados están ligados de hecho a la presencia de ADN de FHV-1. Un diagnóstico preciso y rápido es clave para garantizar un tratamiento eficaz y para evitar la sobremedicación.

Se conocen diferentes compuestos antivíricos para el tratamiento de infecciones por herpesvirus. El compuesto 2-amino- 9-[[[(1S,2R)-1,2-bis(hidroximetil)ciclopropil]metil]-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (también conocido como "A-5021") es un inhibidor potente de la replicación del herpesvirus (Neyts *et al.*, Antiviral Research 2001, 49, 115-120; Iwayama *et al.*, Antimicrob. Agents Chemother. 1998; 42, 1666-1670). Por ejemplo, se ha informado de que A-5021 es un agente antivírico potente y selectivo contra virus del herpes simple de tipo 1 (VHS-1), virus del herpes simple de tipo 2 (VHS-2) y varicela-zóster (VZV) *in vivo*. Sin embargo, el uso médico y veterinario de A-5021 se ve obstaculizado por su poca solubilidad. La solubilización de A-5021 a concentraciones farmacológicamente activas es fuertemente dependiente del pH y obtener una solución estable que comprende más de 1 mg/ml de A-5021 (o soluciones de A-5021 al 0,1 % p/v) requiere normalmente valores de pH por debajo de 4 o bien por encima de 10. Se ha informado de composiciones de colirio que tiene un valor de pH de aproximadamente 7 y que comprenden más de 1 mg/ml de A-5021 por Itahashi *et al.* (Cornea 2008, 27, 334-338), pero estas composiciones tiene una mala estabilidad y por tanto no se pueden usar en la práctica. Por lo tanto, la preparación de formulaciones farmacéuticas estables de A-5021 solubilizado no es sencilla.

El documento JP2004026695 A divulga una preparación basada en agua para colirios que comprende A-5021 al 0,1 % en peso, poli(alcohol vinílico) y tampón de ácido bórico.

Existe la necesidad de obtener procedimientos mejorados de diagnóstico de infecciones víricas y de composiciones que traten de forma eficaz infecciones herpéticas (oculares), que mitiguen al menos uno de los problemas mencionados anteriormente.

Sumario de la invención

La presente invención describe un procedimiento para solubilizar A-5021 en condiciones isotónicas y de pH neutro en concentraciones de entre 1-10 mg/ml (0,1 - 1 % p/v), permitiendo el uso de A-5021 en formulaciones líquidas estables tales como colirios. Dichos colirios son particularmente útiles en el tratamiento y diagnóstico de infecciones oculares en animales.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona composiciones que comprenden A-5021 a una concentración de al menos el 0,1 % p/v que son estables. Más en particular, las composiciones son estables porque el A-5021 no precipita, más en particular no se observa ninguna precipitación en el plazo de 1-48 h, preferentemente en el plazo de 1 semana, más preferentemente en el plazo de 1 mes y lo más preferentemente en el plazo de 3 meses o más después de la fabricación de la composición.

Las composiciones de la invención comprenden:

- A-5021 al menos al 0,1 % p/v; y
- al menos el 20 % p/v de una ciclodextrina.

En modos de realización particulares, la composición es una solución acuosa. En determinados modos de realización, la composición es una solución oftálmica. En modos de realización particulares, la ciclodextrina usada en las composiciones de la invención es hidroxipropil beta-ciclodextrina. En determinados modos de realización, la composición comprende además tiomersal al menos al 0,008 % p/v.

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones como se describe anteriormente, para su uso como una composición diagnóstica y/o terapéutica.

En determinados modos de realización, las composiciones son para su uso en un procedimiento para el tratamiento de una infección herpética ocular. En modos de realización particulares, la infección ocular que se va a tratar es una

infección ocular de un animal de compañía. En determinados modos de realización, dicho animal de compañía es un felino. En modos de realización particulares, la infección ocular que se va a tratar usando las composiciones de la presente invención es una infección ocular de un felino. En modos de realización particulares, los procedimientos de tratamiento concebidos comprenden aplicar la composición de la invención sobre el ojo dos o tres veces al día durante al menos siete días.

En determinados modos de realización, dichas composiciones de la presente invención se conciben para su uso en un procedimiento de diagnóstico de una infección herpética ocular. En modos de realización particulares, la infección ocular es una infección ocular en un animal de compañía. En modos de realización particulares, el animal de compañía es un felino. En modos de realización particulares, dichos procedimientos de diagnóstico concebidos comprenden aplicar la composición de la invención sobre el ojo dos o tres veces al día durante de uno a siete días y determinar si los síntomas clínicos de la infección ocular han disminuido o no, con lo que una disminución en los síntomas clínicos es indicativa del hecho de que la infección ocular es una infección herpética ocular.

En otro aspecto, la presente invención proporciona procedimientos para preparar soluciones oftálmicas estables que comprenden A-5021. Más en particular, el procedimiento comprende las etapas de:

- a) proporcionar una solución que comprende al menos el 20 % p/v de una ciclodextrina;
- b) añadir A-5021 a dicha solución;
- c) solubilizar el A-5021 añadido en la etapa b);
- d) repetir las etapas b) y c) hasta que se obtiene una concentración de A-5021 en dicha solución de al menos 1 mg/ml;
- e) opcionalmente, añadir al menos 0,08 mg/ml de tiomersal.

En modos de realización particulares, dicha ciclodextrina en la etapa a) es hidroxipropil beta-ciclodextrina.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se describirá con respecto a los modos de realización particulares pero la invención no está limitada a los mismos sino solo por las reivindicaciones. Cualquier signo de referencia en las reivindicaciones no se debe interpretar como limitante del alcance de las mismas.

Como se usa en el presente documento, las formas del singular "uno", "una" y "el/la" incluyen ambos referentes singular y plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

Los términos "que comprende", "comprende" y "compuesta de" como se usan en el presente documento son sinónimos de "que incluye", "incluye" o "que contiene", "contiene" y son inclusivos o abiertos y no excluyen miembros, elementos o etapas de procedimiento no enumerados, adicionales. Los términos "que comprende", "comprende" y "compuesta de" cuando se refieren a componentes, elementos o etapas de procedimiento enumerados también incluyen modos de realización que "consisten en" dichos componentes, elementos o etapas del procedimiento enumerados.

Además, los términos primero, segundo, tercero y similares en la descripción y en las reivindicaciones, se usan para distinguir entre elementos similares y no necesariamente para describir un orden secuencial o cronológico, a menos que se especifique. Se ha de entender que los términos usados de este modo son intercambiables en circunstancias apropiadas y que los modos de realización de la invención descritos en el presente documento pueden funcionar en otras secuencias que las descritas o ilustradas en el presente documento.

Los valores como se usan en el presente documento cuando se refieren a un valor medible tal como un parámetro, una cantidad, una duración temporal y similares, se pretende que engloben variaciones de +/-10 % o menos, preferentemente +/-5 % o menos, más preferentemente +/- 1 % o menos y aún más preferentemente +/-0,1 % o menos de y desde el valor especificado, en la medida en que dichas variaciones sean apropiadas para realizarse en la invención divulgada. Se debe entender que cada valor como se usa en el presente documento se divulga por sí mismo, además específica y preferentemente.

La enumeración de intervalos numéricos por criterios de valoración incluye todos los números y las fracciones subsumidas dentro de los intervalos respectivos, así como los criterios de valoración enumerados.

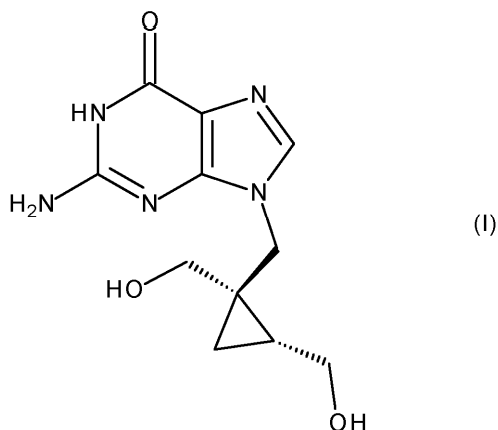
A menos que se defina de otro modo, todos los términos usados para divulgar la invención, incluyendo términos técnicos y científicos, tienen el significado que se entiende comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Por medio de guía adicional, se incluyen definiciones para los términos usados en la descripción para apreciar mejor la enseñanza de la presente invención. Los términos o definiciones usados en el presente documento se proporcionan exclusivamente para ayudar en la comprensión de la invención.

El término "p/v" como se usa en el presente documento se refiere a peso/volumen. Si se establece que una solución

comprende un determinado compuesto en una concentración de x % p/v, esto quiere decir que 1 l de esa solución comprende 10 g de ese compuesto.

El término "sulfo", por sí solo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un grupo $-SO_3H$ o a una sal del mismo.

5 La presente invención proporciona composiciones líquidas que comprenden el compuesto A-5021 (es decir, 2-amino-9-[[[(1S,2R)-1,2-bis(hidroximetil)ciclopropil]metil]-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona), que se representa por la fórmula (I):



10 A diferencia de otros análogos de nucleósidos, el compuesto A-5021 es escasamente soluble en agua. Aunque dadas las similitudes estructurales entre A-5021 y el fármaco anti-herpes conocido penciclovir (es decir, 2-amino-9-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)butil]-3H-purin-6-ona) parece probable que se pueda formular como una formulación de hidrato de sal de sodio, una formulación tal es altamente alcalina y por lo tanto no compatible con aplicaciones en las que se requiere una composición fisiológica.

Por tanto, las aplicaciones particulares de A-5021 se han obstaculizado por la incapacidad para obtener concentraciones suficientemente altas del ingrediente activo en una composición líquida fisiológicamente compatible.

15 Por ejemplo, una formulación de colirio adecuada tendría un pH neutro (es decir, un pH de 7) o próximo a un pH neutro. Los autores de la presente invención han descubierto ahora que solo ciclodextrinas tales como hidroxipropil beta-ciclodextrina (Kleptose® HPB) son adecuadas para las formulaciones líquidas fisiológicas de A-5021, ya que solo el uso de dichos agentes da como resultado una solución al de 0,1 % a 1 % p/v, que se tolera bien por ojos sanos e infectados con herpesvirus (véase el ejemplo a1). Además, la formulación debe ser estable, teniendo en cuenta el uso
20 repetido con un intervalo de varias horas, preferentemente durante varios días o semanas, sin la formación de precipitación en la composición.

En consecuencia, en un primer aspecto, la presente invención proporciona composiciones que comprenden:

- A-5021 al menos al 0,1 % p/v; y
- al menos el 20 % p/v de una ciclodextrina.

25 La provisión del ingrediente activo en concentraciones del 0,1 % p/v o más en una solución fisiológicamente tolerada permite la formulación del mismo en formas diferentes tales como soluciones acuosas (que se pueden aplicar como pulverizaciones o gotas), geles acuosos, etc.

En modos de realización particulares, la composición es una solución oftálmica.

30 En modos de realización particulares, la composición comprende además uno o más disolventes, por ejemplo, agua. En determinados modos de realización, la composición es una solución acuosa. El término "acuoso" como se usa en el presente documento quiere decir que más del 50 por ciento por volumen del disolvente es agua.

En modos de realización particulares, la composición de acuerdo con la presente invención consiste en un disolvente, A-5021 al menos al 0,1 % p/v y al menos el 20 % p/v de una ciclodextrina. En determinados modos de realización, la composición de acuerdo con la presente invención consiste en A-5021 al menos al 0,1 % p/v y al menos el 20 % p/v de una ciclodextrina.
35

La concentración de A-5021 del 0,1 % p/v garantiza el efecto terapéutico suficiente mínimo de la composición para el tratamiento de las infecciones por herpesvirus en animales de compañía u otras especies animales más grandes que los roedores. Sin embargo, en modos de realización particulares, una concentración mayor de A-5021 puede dar lugar a un efecto terapéutico potenciado de la composición. En consecuencia, en determinados modos de realización, la

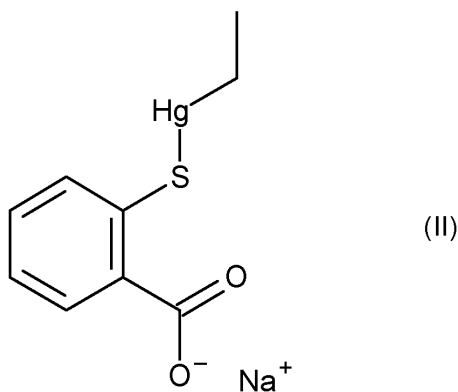
composición comprende A-5021 al menos al 0,10 %, 0,15 %, 0,2 %, 0,25 %, 0,3 %, 0,35 %, 0,4 %, 0,45 %, 0,5 %, 0,55 %, 0,6 %, 0,65 %, 0,7 %, 0,75 %, 0,8 %, 0,85, 0,9 %, 0,95 % o 1 % (los porcentajes son % p/v).

El uso de una ciclodextrina permite obtener formulaciones estables que comprenden una concentración de A-5021 de al menos 0,1 % p/v, por ejemplo 0,2 % p/v o 0,5 % p/v, que se tolera bien cuando se usa en aplicaciones que requieren soluciones fisiológicamente tolerables tales como aplicaciones a los ojos y/o heridas. Una concentración de ciclodextrina mayor permite típicamente obtener una concentración mayor de A-5021. En modos de realización particulares, la composición comprende ciclodextrina al menos al 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 99 % (los porcentajes son % p/v).

La ciclodextrina puede comprender una o más de una beta-ciclodextrina, una gamma-ciclodextrina o una alfa-ciclodextrina. En determinados modos de realización, la ciclodextrina comprende una beta-ciclodextrina. En otros modos de realización, la ciclodextrina comprende una ciclodextrina modificada o sustituida. Por ejemplo, la ciclodextrina puede comprender uno o más sustituyentes seleccionados a partir de hidroxipropilo (por ejemplo 2-hidroxipropilo), sulfobutilo y metilo. En determinados modos de realización, la ciclodextrina es una hidroxipropil (beta)ciclodextrina (por ejemplo Kleptose® HPB), más en particular 2-hidroxipropil (beta)ciclodextrina. La hidroxipropil beta-ciclodextrina incrementa significativamente la solubilidad de A-5021 y se tolera bien cuando se aplica en los ojos. En modos de realización particulares, la ciclodextrina comprende una metil-ciclodextrina, por ejemplo una beta-ciclodextrina metilada al azar. En determinados modos de realización, la ciclodextrina es una sulfobutiléter ciclodextrina, por ejemplo una sulfobutiléter beta-ciclodextrina (por ejemplo Captisol®).

En modos de realización particulares, las composiciones de acuerdo con la presente invención comprenden uno o más conservantes. De hecho, las formulaciones farmacéuticas multidosis comprenden típicamente conservantes para permitir su uso durante múltiples dosificaciones diarias y/o varios días después de la abertura del envase. Sin embargo, dichos conservantes no deben comprometer la tolerabilidad fisiológica de la composición asegurando mientras la estabilidad de la composición a lo largo de un periodo de tiempo prolongado.

Los autores de la invención descubrieron que Tiomersal es el más eficaz en pruebas de eficacia de conservantes mientras no induzca efectos adversos. En consecuencia, en modos de realización particulares, la composición de acuerdo con la presente invención comprende además Tiomersal (es decir (2-carboxilatofenil)sulfanil-etilmercurato de sodio; también conocido como timerosal), que se representa por el compuesto de fórmula (II):



Los autores de la invención han descubierto que una concentración de Tiomersal del 0,005 % p/v o más (por ejemplo 0,008 %, 0,01 % o 0,02 % p/v) es particularmente eficaz para conservación antimicrobiana (véase el ejemplo a1). En consecuencia, en modos de realización particulares, la composición de acuerdo con la presente invención comprende Tiomersal al menos al 0,005, 0,008, 0,01, 0,015 o 0,02 % p/v. En modos de realización particulares, la composición comprende Tiomersal al menos al 0,01 % p/v y A-5021 al menos al 0,2 % p/v. La concentración autorizada máxima de Tiomersal está regulada en diversos países. Por lo tanto, la concentración de Tiomersal es preferentemente no superior al 0,02 % p/v, tal como al 0,01, 0,015, 0,018 o 0,02 % p/v.

Para permitir el uso de las composiciones de acuerdo con la presente invención en aplicaciones que requieren una tolerabilidad fisiológica estricta, tales como en aplicaciones oftálmicas, el pH de la composición debe estar dentro del intervalo de bienestar ocular. En consecuencia, el pH de las composiciones de la presente invención varía preferentemente entre 5 y 8,5, en particular entre 6 y 8, más en particular entre 6,4 y 7,8, lo más en particular entre 6,6 y 7,4. En modos de realización particulares, las composiciones de acuerdo con la presente invención también pueden comprender uno o más agentes tamponadores, tales como un tampón fosfato como fosfato de sodio. En determinados modos de realización, las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden comprender además uno o más agentes de ajuste de pH, tales como hidróxido de sodio, ácido clorhídrico o combinaciones de los mismos.

Se ha descubierto por los autores de la presente invención que el uso de la ciclodextrina no requiere el uso de agentes solubilizantes con un pH elevado.

Además, la tolerabilidad fisiológica de las composiciones de la presente invención implica una discrepancia mínima con la presión osmótica local. En modos de realización particulares, en los que las composiciones son para uso oftálmico, las composiciones tienen preferentemente una presión osmótica u osmolaridad (casi) isotónica con las lágrimas (es decir, aproximadamente 300 mOsm/l), preferentemente entre 200 y 400 mOsm/l. En determinados modos de realización, las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden comprender además uno o más agentes de ajuste de la tonicidad, por ejemplo seleccionados del grupo que consiste en dextrosa, glicerina, manitol, cloruro de potasio, cloruro de sodio y tampones fosfato. Se pueden usar agentes de ajuste de la tonicidad para modificar la presión osmótica u osmolaridad de una composición.

El experto entenderá además que las composiciones de la presente invención son preferentemente estériles y desprovistas de partículas exógenas.

Por tanto, como se indica anteriormente, las composiciones de la presente invención pueden comprender, además del ingrediente activo A-5021 y ciclodextrina, uno o más conservantes y/o agentes tamponadores. En modos de realización particulares, las composiciones de la presente invención consisten esencialmente en el ingrediente activo y ciclodextrina y una solución acuosa tal como un tampón. En modos de realización particulares, las composiciones no comprenden un agente solubilizante con un pH elevado.

Los autores de la invención han descubierto que las composiciones de acuerdo con la presente invención son particularmente útiles para el tratamiento y el diagnóstico de infecciones herpéticas. En consecuencia, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición como se describe anteriormente en el presente documento para su uso en medicina, más en particular para su uso como una composición terapéutica y/o diagnóstica.

En modos de realización particulares, la presente invención proporciona una composición como se describe anteriormente en el presente documento para su uso en un procedimiento para el tratamiento de una infección herpética. En determinados modos de realización, la infección herpética es una infección herpética ocular. Se han observado infecciones por herpesvirus oculares en diversos animales incluyendo gatos (por ejemplo, los ejemplos b1, b2 y b3 a continuación), perros (por ejemplo Ledbetter *et al.*, Veterinary Microbiology 2009, 138, 98-105) y caballos (por ejemplo Kershaw *et al.*, Virus Research 2001, 80, 93-99). En consecuencia, en modos de realización particulares, la infección es una infección en un animal, por ejemplo, seleccionado de un felino, un canino y un equino.

En modos de realización particulares, dichas composiciones se conciben para el tratamiento de una infección en un animal de compañía, más en particular un felino e incluso más en particular un gato. Por tanto, en modos de realización particulares, la infección es una infección por herpesvirus felino. Los autores de la presente invención han descubierto que las composiciones de la presente invención tratan de forma muy eficaz infecciones herpéticas en animales de compañía tales como felinos, por ejemplo, gatos.

Además, los autores de la invención han descubierto que el tratamiento de infecciones oculares herpéticas usando las composiciones de acuerdo con la presente invención es particularmente exitoso cuando la composición se aplica sobre el ojo (afectado) dos o tres veces al día. La frecuencia de aplicación óptima puede depender de factores tales como la gravedad de la infección y la concentración de A-5021 en la composición. En modos de realización particulares, las composiciones que comprenden A-5021 aproximadamente al 0,5 % p/v se aplican dos veces al día. En determinados modos de realización, las composiciones con concentraciones menores, por ejemplo aproximadamente al 0,2 % p/v, se aplican tres veces al día. En modos de realización particulares, la composición se aplica sobre el ojo (afectado) dos o tres veces al día, durante al menos una, dos, tres o cuatro semanas. En determinados modos de realización, el tratamiento se continúa 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más días después de la desaparición de los síntomas clínicos.

Las composiciones de acuerdo con la invención, para su uso en el tratamiento de infecciones oculares típicamente se aplican directamente al ojo, más en particular sobre la córnea. Sin embargo, también se conciben otros medios de aplicación, tales como inyección intraocular.

El herpesvirus felino es una de las enfermedades infecciosas más comunes en gatos. En consecuencia, la presente invención proporciona formulaciones terapéuticas para su uso en el tratamiento de infecciones oculares de gatos. En modos de realización particulares, el régimen de tratamiento es como se describe anteriormente. Por tanto, en modos de realización particulares, el régimen de tratamiento de una composición que comprende A-5021 al 0,1 al 1 % p/v, es de dos o tres aplicaciones al día. Típicamente, las infecciones oculares se caracterizan por uno o más síntomas tales como secreción ocular, conjuntivitis, queratitis, úlceras dendríticas, úlceras geográficas, secuestro corneal, edema corneal, vascularización, ceguera, conjuntivitis eosinófila, queratitis eosinófila, queratitis estromal, uveítis y xeroftalmia. Los síntomas oculares están precedidos normalmente por antecedentes de signos respiratorios. Además, los autores de la presente invención han descubierto que las composiciones de la presente invención son excepcionalmente bien toleradas por animales que padecen síntomas clínicos de infecciones oculares que incrementan la sensibilidad en el ojo, tales como la presencia de la secreción ocular, conjuntivitis, queratitis, úlceras dendríticas, úlceras geográficas, secuestro corneal, edema corneal, vascularización, ceguera, conjuntivitis eosinófila, queratitis eosinófila, queratitis estromal, uveítis, xeroftalmia u otros síntomas clínicos. Por tanto, en modos de realización particulares, las composiciones de la presente invención son para su uso en el tratamiento de infecciones oculares caracterizadas por uno o más de los síntomas descritos anteriormente.

En modos de realización particulares, las composiciones de la presente invención se usan en el tratamiento de infecciones oculares que se ha diagnosticado que son infecciones por herpesvirus. Por ejemplo, las úlceras dendríticas y geográficas (queratitis ulcerosa felina) se consideran una manifestación clínica patognomónica de HVF-1. Por tanto, en modos de realización particulares, las composiciones se usan para el tratamiento de una

5 infección ocular en un felino que padece una úlcera dendrítica o geográfica.

Adicionalmente, como se describe anteriormente, es posible determinar la presencia de una infección por herpes virológicamente. Por tanto, en modos de realización particulares, las composiciones se usan para el tratamiento de una infección ocular en un felino que se ha diagnosticado como infectado con un herpesvirus felino 1 (HVF-1).

10 De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona el uso de las composiciones como se describen en el presente documento anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección ocular, más en particular una infección herpética ocular, como se describe en el presente documento. De forma similar, la presente invención proporciona procedimientos de tratamiento de una infección ocular, que comprenden la aplicación de una composición como se describe en el presente documento anteriormente en el ojo (infectado), más en particular dos o tres veces al día, como se describe en el presente documento anteriormente.

15 Se ha observado que el tratamiento de infecciones por herpesvirus oculares con las composiciones de acuerdo con la presente invención da lugar a mejora significativa de los síntomas clínicos en el plazo de una semana e incluso después de uno o dos días. En vista de esta sorprendente eficacia, las composiciones de acuerdo con la presente invención son adicionalmente adecuadas en procedimientos de diagnóstico de infecciones oculares, más en particular de infecciones oculares felinas. Más en particular, los autores de la invención han descubierto que las composiciones

20 de acuerdo con la presente invención se pueden usar como una herramienta de diagnóstico para confirmar o excluir el herpesvirus felino-1 (HVF-1) como la causa de infecciones oculares en felinos.

De hecho, las infecciones por herpesvirus oculares típicamente dan como resultado una variedad de diferentes y a menudo inespecíficas manifestaciones clínicas entre las que están secreción ocular, conjuntivitis, queratitis, secuestro corneal, conjuntivitis eosinófila, queratitis eosinófila, queratitis estromal, uveítis y xeroftalmia. En el caso de

25 enfermedad ocular felina, otros patógenos víricos, bacterianos y fúngicos pueden provocar una enfermedad clínica similar. Más específicamente, se ha descrito que el calicivirus felino, virus de la inmunodeficiencia felina, virus de la leucemia felina, *Chlamydomphila felis*, *Mycoplasma* spp. (*M. felis* y *M. gatae*) e incluso enfermedades mediadas por el sistema inmunitario están en el origen de una o más de estas manifestaciones oculares clínicas.

En consecuencia, el diagnóstico clínico de HVF-1 representa un reto y a menudo se necesita confirmación de laboratorio. Sin embargo, la mayoría de las técnicas virológicas para detectar el HVF-1 son relativamente insensibles y son menudo una fuente de resultados falsos negativos y falsos positivos. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la actualidad se considera el procedimiento más sensible de detectar ADN de HVF-1 en tejidos oculares. Sin embargo, los resultados de la prueba de PCR parecen inconsistentes, lo que da lugar a que muchos oftalmólogos veterinarios abandonen la realización de pruebas de PCR como un medio de diagnóstico, basándose

35 mejor en la anamnesis y en el cuadro clínico inicial.

Debido a que A-5021 es un fármaco anti-herpes altamente específico que es ineficaz frente a infecciones bacterianas y fúngicas y en virus distintos de herpesvirus (tales como HVF-1) que pueden provocar síntomas similares (tales como calicivirus felino, virus de la leucemia felina y virus de la inmunodeficiencia felina), una respuesta rápida tras el tratamiento con una composición de acuerdo con la presente invención permite su uso como diagnóstico, más en particular como agente terapéutico de diagnóstico. Por tanto, en el caso de infecciones oculares en felinos de etiología desconocida, la respuesta al tratamiento con una composición de acuerdo con la presente invención permite realizar un diagnóstico de primera elección de la infección ocular, más en particular hace posible diagnosticar las infecciones como herpéticas o no herpéticas.

40

En consecuencia, la presente invención proporciona además composiciones como se describe anteriormente en el presente documento, para su uso en un procedimiento de diagnóstico de una infección ocular, más en particular en una infección ocular en un animal de compañía. Más en particular, los procedimientos de diagnóstico concebidos en este contexto comprenden las etapas de a) administrar la composición de la invención en una formulación y la dosificación como se describe anteriormente y b) determinar dentro de un periodo especificado si han mejorado o no los síntomas clínicos, por lo que la mejora de los síntomas clínicos es una indicación de la presencia de una infección por herpesvirus. En otros modos de realización particulares, los procedimientos de la presente invención comprenden administrar una composición de acuerdo con la invención diariamente y determinar en el plazo de 1 a 7 días, tal como en el plazo de 1-2 días, en el plazo de 2-4 días o en el plazo de 5-7 días, si existe una mejora de los síntomas clínicos de la infección. En modos de realización particulares, en vista de la eficacia del tratamiento, los procedimientos comprenden determinar si hay una mejora en el plazo de 1-4 o incluso en 1-2 días.

55 En otro aspecto, la presente invención proporciona procedimientos para preparar una formulación soluble y estable de A-5021 de al menos 1 mg/ml. De hecho, como se detalla anteriormente, los autores de la presente invención han identificado formas de obtener soluciones estables de concentración incrementada de este ingrediente activo, que sean compatibles con la administración directa en el ojo y/o en el tejido herido. Más en particular, las composiciones de la presente invención son estables porque no precipitan, lo que permite el uso repetido del mismo lote durante un

periodo de varios días hasta varias semanas.

Más en particular, los procedimientos de la presente invención comprenden las etapas de:

- a) proporcionar una solución que comprende al menos el 20 % p/v de una ciclodextrina, por ejemplo hidroxipropil beta-ciclodextrina;
 - 5 b) añadir A-5021 a dicha solución;
 - c) solubilizar el A-5021 añadido en la etapa b);
 - d) repetir las etapas b) y c) hasta que se obtiene una concentración de A-5021 en dicha solución de al menos 1 mg/ml;
 - e) opcionalmente, añadir al menos 0,08 mg/ml de tiomersal.
- 10 En modos de realización particulares, la solución proporcionada en la etapa a) es una solución acuosa. Se entenderá que repetir las etapas (b) y (c) solo es necesario si la concentración de 1 mg/ml todavía no se ha conseguido después de la primera realización de las etapas (b) y (c). En modos de realización particulares, el A-5021 se añade en múltiples etapas, tal como en 2-5 etapas.
- La etapa de solubilizar el A-5021 se garantiza típicamente por mezclado, tal como usando un vórtice. En modos de
- 15 realización particulares, la etapa c) comprende el calentamiento de la mezcla obtenida en la etapa b), preferentemente a una temperatura de entre 45 y 60 °C. Se entenderá por la persona experta en la técnica, sin embargo, que esta etapa se puede producir sin requerir ninguna acción particular, en especial cuando se añaden cantidades limitadas del ingrediente activo.
- Como se indica anteriormente, se ha descubierto por los autores de la presente invención que el uso de la ciclodextrina
- 20 no requiere el uso de agentes solubilizantes con un pH elevado. Por tanto, en modos de realización particulares, los procedimientos de la invención no comprenden la adición de un disolvente que tiene un pH por encima de 7,9.

Los siguientes ejemplos no limitantes ilustran la presente invención.

Ejemplos

- 25 Los ejemplos siguientes se proporcionan con el fin de ilustrar la presente invención y de ningún modo se quiere decir que limiten y de ningún modo se debe interpretar que limiten el alcance de la presente invención.

a) Solubilización de A-5021 a concentraciones farmacológicamente activas

Ejemplo a1 - Pruebas de solubilización

- Para determinar la solubilidad de A-5021 (es decir, 2-amino-9-[[[(1S,2R)-1,2-bis(hidroximetil)ciclopropil]metil]-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona), se realizó una primera serie de 33 experimentos en suspensión. Dentro de estos
- 30 experimentos, se consideró un conjunto de 33 sistemas diferentes (es decir, que varían en tampones, codisolventes, agentes solubilizantes). Se usaron los seis tampones siguientes: tampón de HCl (pH 2), tampón fosfato (pH 6,8 y 7,4), tampón de tris(hidroximetil)aminoetano (pH 9), carbonato/bicarbonato de sodio (pH 10,8) y dihidrogenofosfato de potasio (pH 12). Como codisolventes, se usaron dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilacetamida (DMA), N-metilpirrolidona (NMP), etanol (EtOH) y propilenglicol con concentraciones variables. Los agentes solubilizantes usados fueron
- 35 propilenglicol, glicerina, solutol HS 15, polisorbato 80, beta-ciclodextrina, hidroxipropil beta-ciclodextrina (Kleptose® HPB), cremofor EL, cremofor RH 60, polietilenglicol (PEG) 300, PEG 400 y sulfobutiléter beta-ciclodextrina (por ejemplo Captisol®). La solubilidad se determinó por filtración de las suspensiones después de 24 horas del tiempo de equilibrio. La concentración de A-5021 en los filtrados se analizó por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), a partir de la que se calculó la solubilidad correspondiente.
- 40 Se descubrió que la adición de un codisolvente orgánico a las soluciones tamponadas a pH 12 no mejora la solubilidad. Sin embargo, la adición de agentes solubilizantes tales como hidroxipropil-(3-ciclodextrina), Captisol® y propilenglicol (usado a una concentración de hasta el 80 % v/v) a sistemas de tampón con un pH por encima de 11, mejoró la solubilidad. La solubilidad más alta de A-5021 (8,64 mg/ml) se obtuvo en propilenglicol al 80 % (v/v) en tampón al 20 % (v/v) (pH 11,3).
- 45 En base a estos resultados, un número total de 10 determinaciones de solubilidad adicionales se llevaron a cabo teniendo en cuenta diferentes valores de pH para seguir la influencia del pH sobre el perfil de solubilidad de A-5021. Se tomaron en consideración dos sistemas de tampón diferentes, codisolventes y agentes solubilizantes con atención sobre los sistemas que dieron los mejores resultados según se informó anteriormente. La solubilidad se determinó de nuevo por filtración de las suspensiones después de 24 h del tiempo de equilibrio. La concentración de A-5021 en los
- 50 filtrados se analizó por HPLC, a partir de lo que se calculó la solubilidad correspondiente. En general, no se encontraron valores de solubilidad mayores que los ya informados. Usando un pH ácido (es decir, pH 2,8) frente al pH de 11,3 aplicado previamente la solubilidad a temperatura ambiente de A-5021 disminuye ligeramente de 8,64 mg/ml a

8,5 mg/ml. Un sistema tamponado de pH próximo al neutro (propilenglicol al 80 % v/v y tampón fosfato al 20 % v/v a pH 7,4), que es de interés para desarrollar soluciones oftálmicas (que permitan la aplicación tópica de A-5021 en ojos infectados por herpesvirus) permite solubilizar A-5021 a 8,18 mg/ml. Cuando se usa hidroxipropil beta-ciclodextrina (HPBC) como un agente solubilizante en lugar de propilenglicol, la solubilidad de A-5021 disminuye en comparación con los sistemas tamponados con propilenglicol. Usando un tampón de HCl al 60 % v/v y HPBC al 40 % p/v, la solubilidad de A-5021 es de 6,76 mg/ml y 4,91 mg/ml a pH 2,2 y pH 7, respectivamente. La disminución adicional en solubilidad de A-5021 Captisol® se observa cuando se usa como agente solubilizante Captisol® (Captisol® al 30 % p/v y tampón al 70 % v/v). Al incrementar adicionalmente la cantidad de propilenglicol hasta el 5,7-33,34 % v/v en un sistema que ya contiene HPBC al 33,33-40 % p/v/v y tampón al 3,34-54,3 % v/v, se observó una disminución en la solubilidad de A-5021 (a pH 7,0-7,4 se observa una solubilidad de 3,28-4,05 mg/ml de A-5021).

En base a los resultados indicados anteriormente y para poder formular A-5021 a concentraciones farmacológicamente activas (preferentemente de aproximadamente 0,5 mg/ml), se consideró investigar agentes solubilizantes adicionales y/o mantener una cantidad alta de propilenglicol a pH neutro. En total, se sometieron a prueba 28 candidatos a vehículos para solubilizar A-5021 a 5 mg/ml a pH neutro: propilenglicol a una concentración que varía del 20 % al 80 % p/v, glicofulol a una concentración que varía del 5 % al 50 % p/v, glicerol a una concentración que varía del 15 % al 50 % p/v, glicerol al 15 % p/v + glicofulol al 15 % p/v, propilenglicol al 25 % p/v + glicofulol al 25 % p/v, propilenglicol (intervalo: 15 % - 60 % p/v) + glicerol (intervalo: 5 % - 15 % p/v), Kleptose® HPB al 25 % p/v + propilenglicol al 25 %, cremofor RH 40, cremofor EL, solutol HS 15, Kleptose® HPB al 40-50 %, migliol 812N, parafina líquida, polivinilpirrolidona K12.

Solo cuatro vehículos permitieron solubilizar A-5021 a la concentración de 5 mg/ml (0,5 % p/v) a pH cerca del neutro (el pH varió de 6,98-7,11). Estos vehículos son (% p/v en agua):

- (i) propilenglicol al 80 % p/v;
- (ii) Kleptose® HPB al 50 % p/v;
- (iii) propilenglicol al 60 % p/v + glicerol al 15 % p/v;
- (iv) propilenglicol al 60 % p/v + glicerol al 10 % p/v.

La presión osmótica de las formulaciones/soluciones que contenían propilenglicol mostró hipertonidad (osmolalidad alta, no fisiológica). Se observaron valores entre 6925 mOsm y 11725 mOsm, lo que indica la necesidad de someter a prueba la tolerancia local.

Cuando se sometió a prueba en ojos de conejos, ratones y gatos sanos, la tolerancia local de las soluciones que comprenden polietilenglicol era buena. Sin embargo, cuando las formulaciones oftálmicas que comprenden propilenglicol se instilaron en ojos de ratones y gatos infectados con herpesvirus, se observó intolerancia grave. Las manifestaciones clínicas observadas de intolerancia local inmediatamente después de la administración incluyeron lo siguiente: cerrado de ojos (gatos y ratones), vocalización (gatos y ratones), babeo (gatos), zarpadas (gatos), rascado de ojos (gatos) y sacudida de cabeza (gatos y ratones). La gravedad de las observaciones variaba de leve a grave. Las observaciones fueron similares para animales tratados con vehículos (i), (iii) o (iv) (las soluciones basadas en propilenglicol retenidas con o sin glicerol que no contienen A-5021 y las soluciones basadas en propilenglicol retenidas con o sin glicerol que contienen A-5021) que indican que la intolerancia no estaba ligada directamente con la presencia de A-5021. Por tanto, Kleptose® HPB (hidroxipropil beta-ciclodextrina) es el único agente solubilizante adecuado para la preparación de soluciones oftálmicas con A-5021 que comprenden A-5021 entre el 0,1 % y el 1 % p/v, por ejemplo del 0,2 % al 0,5 % p/v. El pH de la solución de Kleptose® HPB que contiene del 0,2 % al 0,5 % p/v varía de 6,0-8,0 con una presión osmótica de aproximadamente 350 mOsm.

Como solución multi-uso para la aplicación oftálmica en ojos enfermos de herpes, se ha de someter a prueba la formulación en Kleptose® HPB para determinar la eficacia de la conservación antimicrobiana. Para este fin, una serie de nueve formulaciones basadas en Kleptose® HPB se sometieron a prueba con conservantes antimicrobianos diferentes:

- sin conservante;
- cloruro de benzalconio (BAK) al 0,01 %;
- BAK al 0,02 %;
- BAK al 0,01 % + ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) al 0,01 %;
- tiomersal al 0,008 %
- tiomersal al 0,01 %;
- tiomersal al 0,02 %;

- alcohol bencílico al 1,5 %;
- para-hidroxibenzoato de metilo al 0,15 % (PHBM) + parahidroxibenzoato de propilo al 0,05 % (PHBP).

Se llevaron a cabo pruebas de eficacia de conservante (criterios de eficacia basada en los de la Farmacopea europea). Las formulaciones se expusieron a *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *A. brasiliensis* (es decir, levaduras, moho y bacterias) y se sometieron a prueba en puntos temporales diferentes después de la exposición (6 horas, 24 horas, 7 días, 14 días y 28 días). La formulación basada en Kleptose® HPB de A-5021 sin conservante no cumplía con los criterios A o B de la Farmacopea europea justificando la inclusión de un conservante antimicrobiano. Las formulaciones basadas en Kleptose® HPB de A-5021 con BAK al 0,01 % - 0,02 % o alcohol bencílico al 1,5 % o PHBM al 0,15 % + PHBP al 0,05 % no cumplían con los criterios A o B. La formulación basada en Kleptose® HPB y A-5021 con BAK al 0,01 % + EDTA al 0,01 % no cumplía con los criterios A o B. Por tanto, de las nueve formulaciones sometidas a prueba, se descubrió que solo las tres formulaciones que comprenden tiomersal (al 0,008 % p/v, 0,01 % p/v y 0,02 % p/v) eran suficientemente eficaces para las soluciones basadas en Kleptose® HPB de A-5021 (al 0,2 % y al 0,5 % p/v). La concentración alta de Kleptose® HPB (es decir, hidroxilpropil-beta-ciclodextrina) puede ser responsable de la inhibición de los otros conservantes.

En conclusión, las siguientes formulaciones de A-5021 se mantienen puesto que estas formulaciones son compatibles con la instilación ocular tópica como producto oftálmico para el tratamiento de la enfermedad ocular relacionada con el herpes en animales de compañía: 0,2 - 0,5 % p/v de A-5021 en Kleptose® HPB al 20 % - 50 % p/v usando tiomersal del 0,008 % al 0,02 % p/v como conservante antimicrobiano (llenado del volumen con agua).

Ejemplo a2 - formulación de A-5021 al 0,5 % p/v (formulación A)

Se solubilizó un total de 5 mg/ml de A-5021 en una solución de Kleptose® HPB al 50 % p/v en agua, después de agitación y calentamiento a una temperatura de entre 45 y 60 °C. Después de esto, no se observó cristalización varios días después del almacenamiento a temperatura ambiente y almacenamiento entre 2 °C y 8 °C. La formulación tiene una presión osmótica de 350 mOsm y un pH de 7,03.

Se añadió tiomersal a una concentración del 0,01 % p/v como un conservante. Se realizó una prueba de eficacia de conservante de acuerdo con el procedimiento general de la Farmacopea europea. La toma de muestras se realizó 6 horas, 7 días, 14 días y 28 días después de la exposición. Se observó una reducción de 3,2 log₁₀ en el contenido de *S. aureus* y una reducción de 1,5 log₁₀ en el contenido de *P. aeruginosa* 6 horas después de la exposición. Después de esto, no se recuperó nada de *S. aureus* ni de *P. aeruginosa*. No se recuperó nada de *C. albicans* o de *A. brasiliensis* en ninguno de los puntos de muestreo (7 días, 14 días y 28 días después de la exposición).

Se evaluó la estabilidad de la composición que comprende A-5021 al 0,5 % p/v y tiomersal al 0,01 % p/v en Kleptose® HPB al 50 % p/v por medio de una prueba de estabilidad acelerada, en la que se almacenó la composición 3 meses a 40 °C con humedad relativa del 75 %. No se notó ninguna disminución con respecto al contenido de A-5021 teórico. No se observó ninguna aparición de productos de degradación por encima del valor umbral fijado al 0,3 %. El contenido en tiomersal se consideró como aceptable con respecto a variaciones analíticas y del procedimiento de fabricación.

Ejemplo a3 - formulación de A-5021 al 0.2 % p/v (formulación B)

Se solubilizó un total de 2 mg/ml de A-5021 en Kleptose® HPB al 20 % p/v (llenado del volumen con agua) después de agitación y calentamiento a una temperatura entre 45 y 55 °C. Se añadió tiomersal a una concentración de 0.01 % p/v. La formulación tuvo un pH de 6,4. Se realizó una prueba de eficacia de conservante de acuerdo con el procedimiento general de la Farmacopea europea. Se observó una reducción de 2,1 log₁₀ en el contenido de *S. aureus* 6 horas después de la exposición. No se recuperó nada de *S. aureus* después de esto (la última muestra se realizó 7 días después de la exposición). Se observó una reducción de 1,7 log₁₀ en el contenido de *P. aeruginosa* 6 horas después de la exposición. No se recuperó nada de *P. aeruginosa* después de esto (la última muestra se realizó 7 días después de la exposición). No se recuperó nada de *C. albicans* o de *A. brasiliensis* 7 días, 14 días y 28 días después de la exposición. La prueba de eficacia de conservante se detuvo a los siete días después de la exposición, dado que ya se demostró la eficacia terapéutica de la composición a los 7 días.

Se evaluó la estabilidad de la solución de A-5021 al 0,2 % p/v en Kleptose® HPB al 20 % p/v y Tiomersal al 0,01 % p/v por medio de una prueba de estabilidad acelerada, en la que se almacenó la composición durante 1 mes a 40 °C con humedad relativa del 75 %. No se notó ninguna disminución con respecto al contenido de A-5021 teórico. No se observó ninguna aparición de productos de degradación por encima del valor umbral fijado al 0,3 %.

b) Tratamiento de infecciones herpéticas

Las soluciones oftálmicas de formulación A y B como se describe anteriormente se usaron para el tratamiento de varios gatos con signos clínicos inducidos por una infección por HVF-1 aguda.

Ejemplo b1 - tratamiento tres veces al día con formulación de A-5021 al 0,5 % p/v

Un gato macho Chartreux de 15 años de edad con antecedentes de enfermedad ocular de HVF-1 (recidiva) se llevó al

oftalmólogo veterinario tras una nueva fase de infección herpética aguda. El ojo derecho estaba afectado y se observaron diferentes úlceras dendríticas (usando tinción con fluoresceína y visualización con azul cobalto). El gato se trató tres veces al día con la composición de la formulación A como se describe anteriormente. Después de 10 días de tratamiento, el gato con el ojo afectado se llevó de nuevo al oftalmólogo veterinario. El ojo derecho estaba completamente abierto. Aunque la prueba de fluoresceína mostró dos ramificaciones epiteliales restantes pequeñas, las úlceras estaban casi completamente curadas. Además, el tratamiento estaba soportado extremadamente bien, ya que el tratamiento no provocó dolor, malestar o irritación. El tratamiento se continuó durante 10 días, después de esto, el gato se curó completamente.

Ejemplo b2 - tratamiento tres veces al día con formulación de A-5021 al 0,2 % p/v

Una camada de dos gatitos europeos de pelo corto de 5 semanas de edad (una gatita hembra y un gatito macho) estaba afectada por HVF-1. El HVF-1 es una enfermedad típica en gatitos neonatales que da lugar a enfermedad respiratoria, fiebre, estornudos o tos, secreción nasal y a menudo simbléfaron (es decir, adhesión parcial o completa de la conjuntiva palpebral del párpado a la conjuntiva bulbar del globo ocular). Cuando eran neonatos, toda la camada de gatitos estaba afectada en cierta medida.

Los dos gatitos se llevaron al oftalmólogo veterinario y se confirmó por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) que eran positivos para HVF-1 en muestras de hisopados nasales. El ojo izquierdo del gatito macho mostraba signos de conjuntivitis espectacular inducida por HVF-1. También se sospechó de úlcera dendrítica, pero fue difícil de confirmar debido a la hinchazón de la conjuntiva.

La gatita hembra estaba aún más gravemente afectada y tuvo edema corneal en el ojo izquierdo y un simbléfaron grave en el ojo derecho, cubriendo la membrana nictitante todo el ojo derecho. Ambos gatitos se trataron tres veces al día con la solución oftálmica de formulación B como se describió anteriormente. Después de siete días de instilaciones oculares, el gatito macho se curó completamente y la gatita hembra dejó de presentar infección como se demostró por los resultados de PCR negativos para HVF-1 (muestras de hisopados conjuntivales).

Ejemplo b3 - tratamiento dos veces al día con formulación de A-5021 al 0,2 % p/v

Un gatito europeo de pelo corto macho de 6 semanas de edad se llevó al oftalmólogo veterinario con síntomas respiratorios. El ojo izquierdo se mantenía cerrado y estaba presente edema corneal, así como pequeños vasos sanguíneos que formaban un pequeño granuloma corneal. Al gatito se le diagnosticó infección por herpesvirus. El gatito se trató dos veces al día con la formulación oftálmica B como se describe anteriormente y su afección mejoró en los 7 días de tratamiento: el ojo izquierdo estaba más abierto, el granuloma corneal disminuyó y los vasos sanguíneos se retrajeron. Quedó algún edema residual. El tratamiento se continuó a la misma frecuencia de tratamiento dos veces al día, hasta que el gatito se curó completamente.

c) Diagnóstico y tratamiento de infecciones herpéticas.

Ejemplo c1

Un gato europeo de pelo corto macho de 1 año de edad se llevó al oftalmólogo veterinario con los siguientes signos clínicos: estornudos y conjuntivitis grave del ojo derecho. Al gato se le diagnosticó queratitis intersticial. No se observó ninguna úlcera corneal o dendrítica, por lo tanto no se pudo realizar un diagnóstico clínico de HVF-1 definitivo. No obstante, se supuso que HVF-1 estaba en el origen y se tomaron muestras de hisopados conjuntivales para el análisis por PCR de HVF-1. El gato dio negativo en las pruebas por PCR de HVF-1. Por lo tanto, no se pudo realizar un diagnóstico virológico de HVF-1. Se inició el tratamiento con la formulación oftálmica A como se describe anteriormente; no se administró conjuntamente ningún otro tratamiento ni corticosteroides. Se observó una mejora marcada en la primera semana de tratamiento. Después de dos semanas de tratamiento, la córnea era claramente visible así como la cámara anterior del ojo. La reacción inflamatoria observada en la consulta original estaba en regresión. Por tanto, un diagnóstico de enfermedad por HVF-1 se podría basar en el tratamiento exitoso con solución oftálmica de A-5021 con una mejora marcada en la primera semana de tratamiento. Esto se confirmó por el tratamiento exitoso continuado y la mejora clínica observada 16 días después del inicio del tratamiento. 103 días después del tratamiento, el gato se examinó de nuevo y se descubrió que la córnea estaba calmada y que no mostraba ninguna secuela.

Ejemplo c2

Un gato europeo de pelo corto hembra de 4 años de edad se llevó al oftalmólogo veterinario con los siguientes signos clínicos: cierre de ojo derecho con presencia de múltiples vasos corneales intersticiales. Al gato se le diagnosticó queratitis intersticial con una reacción principalmente vascular. Sin embargo, no se observaron úlceras corneales o dendríticas en este gato adulto, por lo tanto no se pudo realizar un diagnóstico clínico de HVF-1 definitivo. Se tomaron muestras de hisopados conjuntivales para el análisis con PCR de HVF-1. El gato dio negativo en pruebas por PCR de HVF-1. Por lo tanto, no se pudo realizar un diagnóstico virológico de HVF-1. Se inició el tratamiento preliminar con la formulación oftálmica A como se describe anteriormente; no se administró conjuntamente ningún otro tratamiento ni corticosteroides. Se observó una mejora marcada en la primera semana de tratamiento. Después de tres semanas de tratamiento, el gato estaba significativamente mejor, el ojo estaba mucho más claro y los vasos corneales remitieron en

gran medida. Por tanto, un diagnóstico de enfermedad HVF-1 se basó en el tratamiento exitoso con solución oftálmica de A-5021 con una mejora marcada en la primera semana de tratamiento. El diagnóstico se confirmó por el tratamiento exitoso continuado y la mejora clínica observada 21 días después del inicio del tratamiento.

Ejemplo c3

- 5 Se tomaron muestras de un total de 20 gatos de campo de diferentes razas y edades, con una variedad de manifestaciones oculares para las que se asumió que HVF-1 era la causa subyacente (como por la opinión de un Diplomado del Colegio Europeo de Oftalmología Veterinaria), (se tomaron muestras de hisopados oculares para el análisis por PCR de HVF-1) y se trataron con diferentes formulaciones de A-5021 (a la concentración del 0,2 % y 0,5 %). El tratamiento se administró por vía tópica como instilaciones de colirio en los ojos afectados a una frecuencia de 2 o 3 veces al día. Se obtuvieron resultados de PCR positivos para HVF-1 en el 60 % de estos casos (12 de 20
- 10 gatos), se obtuvieron resultados negativos para HVF-1 en el 25 % de los casos y para el 15 % de los casos no estaban disponibles resultados de PCR (debido a, por ejemplo, fallo en la extracción de ADN). De los casos negativos por PCR de HVF-1, todos los gatos respondieron rápidamente al tratamiento con mejora clínica significativa ya observada en la primera semana de tratamiento (falsos negativos basados en PCR). Por el contrario, un gato que se descubrió que era
- 15 positivo por PCR para ADN de HVF-1 no respondió al tratamiento (falso positivo basado en PCR y en diagnóstico clínico).

Por tanto, el fármaco anti-herpes específico A-5021 se formuló como producto oftálmico y es un agente terapéutico de diagnóstico rápido para ojos enfermos de herpes.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende:
 - al menos 2-amino-9-[[[(1S,2R)-1,2-bis(hidroximetil)ciclopropil]metil]-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona al 0,1 % p/v; y
 - al menos el 20 % p/v de una ciclodextrina,
- 5 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos el 30 % p/v de una ciclodextrina.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos el 50 % p/v de una ciclodextrina.
4. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que es una solución acuosa.
5. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que dicha composición es una solución oftálmica.
- 10 6. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicha ciclodextrina es hidroxipropil beta-ciclodextrina.
7. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende además tiomersal al menos al 0,008 %.
- 15 8. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso como una composición diagnóstica o terapéutica.
9. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, para su uso en un procedimiento para el tratamiento de una infección herpética ocular.
10. La composición de acuerdo con la reivindicación 9, en la que dicha infección ocular es una infección ocular de un animal de compañía.
- 20 11. La composición de acuerdo con la reivindicación 10, en la que dicho animal de compañía es un felino.
12. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en la que dicho procedimiento comprende aplicar dicha composición sobre el ojo dos o tres veces al día durante al menos siete días.
13. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, para su uso en un procedimiento de diagnóstico de una infección herpética ocular.
- 25 14. La composición de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, en la que dicha infección ocular es una infección ocular en un animal de compañía.
15. La composición de acuerdo con la reivindicación 14, en la que dicho animal de compañía es un felino.
16. Un procedimiento para preparar una solución oftálmica, que comprende las etapas de:
 - a) proporcionar una solución que comprende al menos el 20 % p/v de una ciclodextrina;
 - 30 b) añadir 2-amino-9-[[[(1S,2R)-1,2-bis(hidroximetil)ciclopropil]metil]-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona a dicha solución;
 - c) solubilizar la 2-amino-9-[[[(1S,2R)-1,2-bis(hidroximetil)ciclopropil]metil]-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona añadida en la etapa b);
 - d) repetir las etapas b) y c) hasta que se obtiene una concentración de 2-amino-9-[[[(1S,2R)-1,2-bis(hidroximetil)ciclopropil]metil]-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona en dicha solución de al menos 1 mg/ml;
 - 35 e) opcionalmente, añadir al menos 0,008 mg/ml de tiomersal.
17. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 16, en el que la etapa a) comprende proporcionar una solución que comprende al menos el 30 % p/v de una ciclodextrina.
18. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 16, en el que la etapa a) comprende proporcionar una solución que comprende al menos el 50 % p/v de una ciclodextrina.
- 40 19. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, en el que dicha ciclodextrina es hidroxipropil beta-ciclodextrina.