(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 577 009**

(51) Int. CI.:

A61K 31/352 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61P 27/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07D 311/86 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.02.2012 E 12749626 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.04.2016 EP 2679226**

(54) Título: **Agente terapéutico para daño del nervio sensorial corneal que contiene un inhibidor de semaforina como principio activo**

(30) Prioridad:

25.02.2011 JP 2011040128

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.07.2016

(73) Titular/es:

KEIO UNIVERSITY (50.0%)
15-45 Mita 2-chome Minato-ku
Tokyo 108-8345, JP y
SUMITOMO DAINIPPON PHARMA CO., LTD. (50.0%)

(72) Inventor/es:

OKANO, HIDEYUKI;
TSUBOTA, KAZUO;
SHIMMURA, SHIGETO;
OMOTO, MASAHIRO;
KISHINO, AKIYOSHI y
MAEDA, MIHO

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

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

Agente terapéutico para daño del nervio sensorial corneal que contiene un inhibidor de semaforina como principio activo

Campo técnico

La presente invención se refiere a un agente terapéutico para la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal, u ojo seco asociado con ellas, en donde el agente terapéutico comprende, como ingrediente activo, un compuesto de xantona que tiene actividad inhibidora de semaforina.

Técnica anterior

La córnea es una membrana transparente que cubre la parte frontal del ojo y tiene la función de introducir la luz dentro del ojo y después refractar la luz con el fin de enfocar los ojos junto con el cristalino. Por otra parte, puesto que la superficie de la córnea siempre está cubierta de lágrimas, la córnea tiene también la función de prevenir el ojo seco o infecciones bacterianas en los ojos. Esta córnea puede debilitarse o degenerar debido a una lesión o enfermedad, y como resultado, las funciones mencionadas anteriormente se pueden perder. Para tratar estos síntomas, se utiliza por primera vez un fármaco. . Además, en un caso en el que un fármaco de este tipo no provoca efectos terapéuticos suficientes, se realiza el trasplante de una córnea normal en la córnea debilitada o degenerada.

El nervio sensorial de la córnea, que es un nervio sensorial derivado del nervio trigémino, se distribuye sobre la capa superficial de la córnea. El nervio trigémino es uno de los nervios craneales, y también se conoce como el quinto nervio craneal. El nervio trigémino se ramifica en tres nervios, a saber, el nervio oftálmico, el nervio maxilar y el nervio mandibular. Entre el nervio oftálmico, el nervio que viaja en la córnea es el nervio sensorial de la córnea. El nervio sensorial corneal desempeña no sólo una función para hacer que el reflejo corneal (reflejo de parpadeo) por la sensibilidad de la córnea proteja la córnea, sino también una función para la producción de lágrimas y la promoción de la secreción de factores neurotróficos que mantienen la homeostasis de la córnea.

En la enfermedad corneal, no sólo ocurre degeneración de la córnea misma, sino también daño del nervio sensorial corneal, y, por tanto, se deteriora la función normal del nervio y se produce una perturbación sensorial. Por otra parte, en la cirugía corneal, que incluye, como ejemplos típicos, queratoplastia para el tratamiento de enfermedades o cirugía de corrección de la miopía tal como LASIK, ya que los nervios sensoriales de la córnea están desconectados, un trastorno sensorial debe ocurrir durante un largo periodo de tiempo después de la finalización de la cirugía. Tal perturbación sensorial, es decir, la neuropatía sensorial de la córnea significa específicamente la reducción en la percepción sensorial, como la percepción táctil o la percepción del dolor en la superficie de la córnea, y causa la falta de reflexión corneal, sequedad en los ojos debido a una anomalía en las lágrimas (xerosis corneal), daño en globos oculares, etc.

Ejemplos de la enfermedad corneal conocida como una de las causas de la neuropatía sensorial corneal o los ojos secos incluyen queratitis, leucoma (que es causado por herpes corneal, el sarampión, la sífilis, o lesiones), infección corneal, degeneración corneal, distrofia corneal, distrofia del estroma corneal, queratopatía bullosa, queratocono, descompensación corneal, úlcera corneal, queratopatía neuroparalítica, queratopatía diabética, quemaduras químicas de la córnea (causadas por una sustancia química o similar que ha entrado en los ojos), y quemaduras térmicas de la córnea. Cuando la enfermedad es grave, se puede aplicar queratoplastia para tratarla.

Ejemplos de la cirugía corneal conocida como una de las causas de la neuropatía sensorial corneal o los ojos secos incluyen queratoplastia, cirugía de corrección de la miopía, y una operación de interposición para insertar la lente artificial (lente cristalino artificial) para el tratamiento de cataratas y similares.

La queratoplastia también se conoce como trasplante de córnea para la plastia de la córnea. La aplicación práctica de la queratoplastia no se limita a los casos antes mencionados. Los fines de la aplicación de la queratoplastia incluyen 1) un fin óptico, 2) un fin terapéutico, 3) un fin quirúrgico, y 4) un fin cosmético.

El fin óptico en 1) anterior significa la restauración de la transparencia de la córnea turbia y recuperación de la visión. Ejemplos de una enfermedad causante de estos síntomas incluyen queratitis, leucoma (que es causado por herpes corneal, el sarampión, la sífilis, o lesiones), infección corneal, degeneración corneal, distrofia corneal, distrofia del estroma corneal, queratopatía bullosa, queratocono, y descompensación corneal. El fin terapéutico en 2) anterior significa el alivio de la infección por la ablación de la córnea como un foco de infección. Un ejemplo de una enfermedad causante de este síntoma es la úlcera corneal (principalmente, la infección en una etapa activa). El fin quirúrgico en 3) anterior significa la retención de la forma de un globo ocular en el caso de perforación de la córnea. Ejemplos de una enfermedad causante de estos síntomas incluyen úlcera corneal (bacteriana, fúngica, úlcera viral o estéril) y lesión. El fin cosmético en 4) anterior significa la mejora estética del leucoma asociado a la opacidad de la córnea.

Los ejemplos específicos de queratoplastia incluyen 1) queratoplastia penetrante, 2) queratoplastia laminar, 3) queratoplastia laminar profunda, 4) escleroqueratoplastia, 5) trasplante de injerto escleral, 6) trasplante de limbo corneal, y 7) el trasplante de amnios.

La queratoplastia penetrante en 1) anterior es una operación de intercambio de la capa completa que va de la ectocórnea a la córnea endotelial. Este trasplante se utiliza para el tratamiento de una enfermedad que implica enturbiamiento que llega a la capa profunda de la parénquima de la córnea, tal como una enfermedad corneal bullosa que necesita trasplante endotelial o perforación de la úlcera. La queratoplastia laminar en 2) anterior es una operación para extirpar sólo la ectocórnea y una lesión en el parénquima de la córnea y luego trasplantar en ella una sección de la córnea del mismo tamaño que la porción extirpada. Este trasplante se utiliza en un caso en el que sólo la capa superficie del parénquima de la córnea se va volviendo opaco, en un caso en el que la parte periférica de la córnea se adelgaza, y en un caso en el que la córnea se vuelve localmente delgada. La queratoplastia laminar profunda en 3) anterior es una operación para extirpar la ectocórnea y el parénquima de la córnea en su conjunto, mientras que sólo se dejan la membrana de Demes y el endotelio de la córnea y, a continuación, trasplantar sólo la ectocórnea y el parénquima de la córnea ajustados para que tenga el mismo tamaño que la porción extirpada. Este trasplante se utiliza en un caso en el que las células endoteliales están sanas. La queratoplastia esclerótica en 4) anterior es una operación para extirpar la córnea, así como la esclerótica y después trasplantar una sección esclerocorneal en la porción extirpada. Se utiliza este trasplante, por ejemplo, en un caso en el que la úlcera corneal se extiende sobre un amplio rango. El trasplante de injerto escleral en 5) anterior es una operación para corregir la esclerótica adelgazada. Este trasplante se utiliza en un caso en el que la córnea es saludable y la esclerótica está reforzada. El trasplante de limbo corneal en 6) anterior es una operación para trasplantar las células madre del limbo corneal a fin de suministrar una ectocórnea normal. El trasplante de amnios en 7) anterior es una operación para extirpar una conjuntiva anómala y después trasplantar un amnios en la porción extirpada. Como resultado de esta operación, se ajusta el entorno, de manera que un globo ocular puede ser cubierto de nuevo con una conjuntiva normal.

Los ejemplos de enfermedades causantes que requieren queratoplastia a una frecuencia elevada en Japón incluyen: En primer lugar, queratocono; en segundo lugar, leucoma; en tercer lugar, queratopatía bullosa; en cuarto lugar, degeneración de la córnea; y en quinto lugar, quemaduras químicas de la córnea o quemaduras térmicas de la córnea. Queratocono es una distrofia corneal que se desarrolla en la pubertad. En esta enfermedad, la porción central de la córnea se adelgaza gradualmente y se proyecta hacia delante. Debido a que se deforma la forma de la córnea, la función de la córnea como lente se deteriora. En un caso en el que el queratocono es grave, y por lo tanto, la visión no puede corregirse suficientemente con lentes de contacto o es difícil utilizar lentes de contacto durante un largo período de tiempo, puede realizarse una queratoplastia. El leucoma es frecuentemente desarrollado en personas de edad, y lo indica la cicatriz que queda en la córnea como resultado de estar afectado por queratitis a edad temprana. La turbidez que ocurre después de la queratitis herpética también se incluye en leucoma. Queratopatía bullosa indica una condición en la que las células endoteliales que regulan el contenido de agua en la córnea en el lado posterior de la misma disminuyen y como resultado, se acumula agua y la córnea se hincha. También se incluye en la queratopatía bullosa una condición en la que el número de células endoteliales se reduce en un paciente que previamente ha experimentado queratoplastia, y en la que el paciente necesita de nuevo queratoplastia, que se conoce como reimplante. La degeneración de la córnea indica una condición en la que sustancias anormales se depositan en la córnea y ésta se vuelve turbia. Las quemaduras químicas de la córnea y las quemaduras térmicas de la córnea indican una condición en la que un producto químico o cemento entra en los ojos y, como resultado, se genera una cicatriz grande.

Se dice que, por ejemplo, de 1.000 a 2.000 casos de tales queratoplastias se llevan a cabo anualmente en Japón. También se dice que el número de pacientes que requieren queratoplastia es de alrededor de 20.000 al año.

Aparte de la queratoplastia, la cirugía de corrección de la miopía es una operación en la que puede ocurrir neuropatía sensorial corneal como resultado de la desconexión del nervio sensorial corneal. El término "cirugía correctiva de la miopía" se utiliza principalmente en el sentido de una operación para recuperar una disminución de la visión debido a la miopía.

Los ejemplos específicos de la operación que se refiere colectivamente como la cirugía de corrección de la miopía en la actualidad incluyen queratotomía radial (RK), queratotomía fotorrefractiva (PRK) y queratomileusis con láser in situ (LASIK, cirugía refractiva). Entre estas operaciones, el láser de excímero se utiliza en PRK y LASIK. Hace diez años, la principal cirugía de corrección de la miopía era la queratotomía radial. Sin embargo, recientemente, la cirugía correctiva de la miopía más común es LASIK. Por lo tanto, la tendencia de la cirugía correctiva de la miopía se ha cambiado recientemente en un corto tiempo, y por lo tanto se puede decir que el método de funcionamiento más avanzado será reemplazado con un nuevo método de operación. En el caso de LASIK por ejemplo, entre 50.000 y 60.000 casos de operaciones de LASIK se llevan a cabo al año en Japón. El número de casos que requieren operaciones de LASIK tiende a aumentar. Con tal aumento en el número de operaciones de LASIK, ojos secos y similares han sido reportados como secuelas de la cirugía LASIK.

Por otra parte, la cirugía de corrección de la miopía también incluye métodos de corrección de la miopía distintos de la cirugía, como LASEK, Segmentos de anillos corneales intraestromales (ICRS), lentes intracorneales, lente intraocular fáquica, y ortoqueratología. A partir de estos métodos de corrección de la miopía, también se ha desarrollado la misma neuropatía sensorial corneal descrita más arriba.

Más aún, el nervio sensorial corneal no sólo se desconecta por queratoplastia y cirugía de corrección de la miopía, sino también por operaciones quirúrgicas orientadas a la córnea y necesarias para el tratamiento de una enfermedad

del ojo o lesión en la córnea, como queratotomía, queratectomía, cirugía refractiva, el procedimiento de ortoqueratología o queratomileusis. Como resultado, la misma neuropatía sensorial descrita anteriormente es desarrollada por estas operaciones quirúrgicas. Además, en el tratamiento de cataratas y similares, puede llevarse a cabo una operación para insertar una lente artificial en los ojos. Incluso en una operación de este tipo, como la córnea sufre una ligera incisión, es probable que el nervio sensorial corneal pueda resultar dañado.

La semaforina es una proteína endógena que se identificó como un factor causante de que el cono de crecimiento nervioso degenere y represor del alargamiento de los axones. Hasta la fecha, se han conocido aproximadamente 20 tipos de especies moleculares. Entre estas especies, un grupo de genes, que se conoce como la subfamilia de clase 3, ha sido bien estudiado, y se ha sabido que las proteínas codificadas por estos genes tienen in vitro una fuerte actividad represora del alargamiento de neuritas o una actividad causante de que el cono de crecimiento degenere. El factor más estudiado es la semaforina 3A (Sema3A, colapsina-1) (Literatura de no patentes 1 y 2), y esta proteína induce a los conos de crecimiento de las células nerviosas cultivadas a degenerarse a una baja concentración en un tiempo corto.

Como sustancias que tienen actividad inhibidora de semaforina frente a semaforina, se han conocido: una serie de compuestos de xantona (Literatura de patentes 1 y 2) obtenidos a partir de cultivos de Penicillium sp. cepa SPF-3059 (nº de acceso FERM BP-7663; NITE Patent Microorganisms Depositary (NPMD)); y los derivados formados por modificación química de estos compuestos de xantona (Literatura de Patentes 3). El compuesto de xantona tiene una acción promotora de la neurodegeneración in vivo. Por otra parte, también se ha informado que un compuesto tal de xantona suprime la muerte de la célula nerviosa asociada con el trastorno isquémico y es eficaz para el tratamiento o prevención de la neuropatía isquémica (Literatura de Patentes 4).

Se ha informado de la acción de semaforina sobre el nervio sensorial de un animal adulto in vivo (no la Literatura de Patente 3). En concreto, se ha informado de que, cuando un gen semaforina 3 se introduce en células ectocorneales de conejo utilizando una pistola de genes, el nervio trigémino se degenera y que el re-alargamiento del nervio trigémino se suprime mediante la administración de un gen Sema3 a un conejo adulto en un modelo de herida corneal en el que la ectocórnea ha sido exfoliada y eliminada. Este informe sugiere que el nervio sensorial de un adulto ajustarse agonísticamente por un gen Smad3 y que el dolor crónico ser tratado mediante la administración de dicho gen Smad3. Sin embargo, este informe no describe ni sugiere un método para promover la regeneración del nervio sensorial de la córnea que se ha desconectado debido a daño de la córnea. Esto se debe a que el informe no sugiere que el nervio sensorial de la córnea no puede ser lo suficientemente regenerado si no se practican tratamientos después del daño de la córnea. Además, no ha quedado claro que la semaforina que se expresa en la córnea cause insuficiente regeneración del nervio sensorial corneal.

Se ha informado de que la semaforina 3a derivada de cristalino controla repulsivamente la formación del nervio sensorial de la córnea durante el periodo de desarrollo (vida fetal) (Literatura no de Patentes 4). En esta publicación, se considera que el nervio sensorial de un globo ocular se forma generalmente durante una vida fetal de tal manera que evita la córnea, formando de este modo un anillo de nervio circular, pero que dicho anillo nervioso circular no se puede formar normalmente cuando el cristalino es eliminado de un embrión de pollo, y por lo tanto que un factor que actúa repulsivamente sobre el alargamiento del nervio es secretado por el cristalino. Según esta publicación, cuando el cristalino se co-cultivó con el nervio sensorial, el nervio sensorial no se alargó en una dirección en la que el cristalino estaba presente. Sin embargo, el nervio sensorial se alargó en la dirección mencionada anteriormente mediante la adición de un péptido de bloqueo de Sema3A. En consecuencia, se ha considerado en la publicación antes mencionada que el factor que actúa repulsivamente sobre el alargamiento del nervio sensorial es la semaforina 3a derivada del cristalino. Por otra parte, cuando se añadió un péptido de bloqueo de Sema3A en o alrededor de la lente cristalina de un embrión normal, se confirmó el alargamiento del nervio sensorial corneal. Basándose en estos resultados, esta publicación ha informado que la semaforina 3A derivada del cristalino controla repulsivamente la formación del nervio sensorial corneal durante el periodo de desarrollo (vida fetal). Sin embargo, esta publicación no describe ni sugiere un método para promover la regeneración del nervio sensorial de la córnea que se ha desconectado debido a daño de la córnea. La esencia de esta publicación es dilucidar el mecanismo de la formación característica del nervio sensorial de la córnea durante el periodo de desarrollo. Por lo tanto, esta publicación no describe la asociación de la semaforina con la enfermedad, ni estudia la semaforina utilizando modelos de patologías. Esta publicación ha aclarado usando un péptido de bloqueo de Sema3A que el nervio sensorial no entra en la córnea debido a que la semaforina 3A actúa repulsivamente sobre el mismo. Sin embargo, esta es la conclusión obtenida en el caso de la etapa de formación del nervio normal en un embrión en el periodo de desarrollo (vida fetal). Las circunstancias son radicalmente diferentes del caso de inhibir el alargamiento del nervio sensorial corneal en la córnea dañada. Por otra parte, en esta publicación, no se ha llevado a cabo un experimento inhibidor usando modelos de daño de la córnea. De este modo, el alargamiento del nervio sensorial corneal en la córnea dañada no puede ser analizado. Además, sólo un embrión de pollo se ha usado como un modelo in vivo, y los roedores no se han utilizado en los estudios. Por consiguiente, este informe no describe ni sugiere un método para promover la regeneración del nervio sensorial de la córnea que se ha desconectado debido a daño de la córnea.

Se ha informado de que el hecho de que la semaforina 3 A se expresa y está presente en la córnea de ratas se había demostrado mediante un método de inmunotinción o un método de PCR en tiempo real (Literatura no de Patentes 5). Sin embargo, este informe no describe ni sugiere un método para promover la regeneración del nervio

sensorial de la córnea que se ha desconectado debido a daño de la córnea. En esta publicación, no se han llevado a cabo experimentos inhibitorios, no se han llevado a cabo experimentos utilizando modelos de daño o modelos de condición patológica, y no hay descripciones en relación con daños en la córnea.

Se ha informado de que el hecho de que, en el caso de los ratones, la semaforina 3 A y los receptores de la misma, a saber, neuropilina 1 y plexinA, se expresan y están presentes en la córnea en un período de la vida fetal hasta al menos dos semanas después del nacimiento, se había demostrado mediante un método de inmunotinción o un método de PCR en tiempo real (no la Literatura de Patente 6). Sin embargo, la esencia de este informe es la asociación de la semaforina 3A con la formación de la córnea en un período de la vida fetal hasta el momento inmediatamente después del nacimiento. Esta publicación no describe ni sugiere un método para promover la regeneración del nervio sensorial de la córnea que se ha desconectado debido a daño de la córnea. En esta publicación, no se han llevado a cabo experimentos inhibitorios, no se han llevado a cabo experimentos utilizando modelos de daño o modelos de condición patológica, y no hay descripciones en relación con daños en la córnea.

Se ha informado de que el hecho de que una fluctuación en la expresión de la semaforina 3A se asocia con la formación del nervio corneal en la vida fetal de un pollo había quedado demostrado por un método de hibridación in situ o un método de PCR en tiempo real (Literatura no de Patentes 7). Sin embargo, este informe no incluye un informe sobre los mamíferos, sino un informe sobre pájaros. Además, la esencia de esta publicación es dilucidar el mecanismo de la formación del circuito de nervio corneal en la vida fetal. Esta publicación no describe ni sugiere un método para promover la regeneración del nervio sensorial de la córnea que se ha desconectado debido a daño de la córnea. Además, en esta publicación, no se han llevado a cabo experimentos inhibitorios, no se han llevado a cabo experimentos utilizando modelos de daño o modelos de condición patológica, y no hay descripciones en relación con daños en la córnea.

Se ha examinado una fluctuación en la expresión de la semaforina 3A y su receptor neuropilina-1 utilizando modelos de heridas de la córnea de rata adulta. Como resultado, se encontró que los niveles de expresión de semaforina 3A y neuropilina-1 se incrementaron sobre toda la capa de la parte de borde de un área de la herida debido al daño, pero que los niveles de expresión volvieron a niveles normales como resultado de la curación. Así, se sugiere que la semaforina 3A está profundamente asociada con la curación de la herida en la ectocórnea (Literatura no de Patentes 8). Sin embargo, esta publicación es relevante para la regeneración de las células ectocorneales, y no describe ni sugiere un método para promover la regeneración del nervio sensorial de la córnea que se ha desconectado debido a daño de la córnea. Estos modelos de daño son diferentes de los modelos de daño debido a la queratoplastia o daño del nervio sensorial. En esta publicación, no se han llevado a cabo experimentos de inhibición, y no hay descripciones en relación con la función del nervio sensorial.

El documento JP-A-2006/335683 describe compuestos de xantona que tienen actividades inhibidoras de semaforina útiles como promotores de regeneración del nervio en el centro y la periferia, y como agente terapéutico/ profiláctico para enfermedad neuropática, enfermedad neurodegenerativa y lesión isquémica que acompaña a una enfermedad neurológica tal como glaucoma.

JP-A-2008/013530 describe un método para producir compuestos de xantona que tienen actividad inhibidora de semaforina.

Lista de citas

Literatura de patentes

Literatura de patentes 1: Publicación internacional WO02/09756

Literatura de patentes 2: Publicación internacional WO03/062243

Literatura de patentes 3: Publicación internacional WO03/062440

Literatura de patentes 4: Publicación internacional WO 2005/053678

Literatura de no patentes

Literatura de no patentes 1: Cell, volumen 75, pág. 217, 1993

Literatura de no patentes 2: Cell, volumen 75, pág. 1389, 1993

Literatura de no patentes 3: Nature Medicine, Volumen 3, Número 12, pág. 1398, 1997

Literatura de no patentes 4: Development Biology, Volumen 306, Número 2, pág. 750, 2007

Literatura de no patentes 5: Experimental Eye Research, Volumen 86, Número 4, pág. 669, 2008

Literatura de no patentes 6: Biochemical and Biophysical Research Communications, Volumen 403, Número 3-4, pág. 305, 2010

Literatura de no patentes 7: Developmental Biology, Volumen 344, Número 1, pág. 172, 2010

Literatura de no patentes 8: Biochemical and Biophysical Research Commmunications, Volumen 395, Número 4, pág. 451, 2010

Compendio de la invención

Problema técnico

Como se ha descrito anteriormente, hay muchos informes sobre estudios que se refieren a la córnea y la semaforina. Sin embargo, no se ha efectuado ningún estudio relacionado con el hecho de que un compuesto de xantona que tiene actividad inhibidora de semaforina 3A promueve el re-alargamiento del nervio sensorial dañado o desconectado debido a enfermedad corneal o cirugía corneal tal como queratoplastia y tiene el efecto de un agente terapéutico o preventivo eficaz para la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal. Este hecho no ha sido conocido hasta ahora.

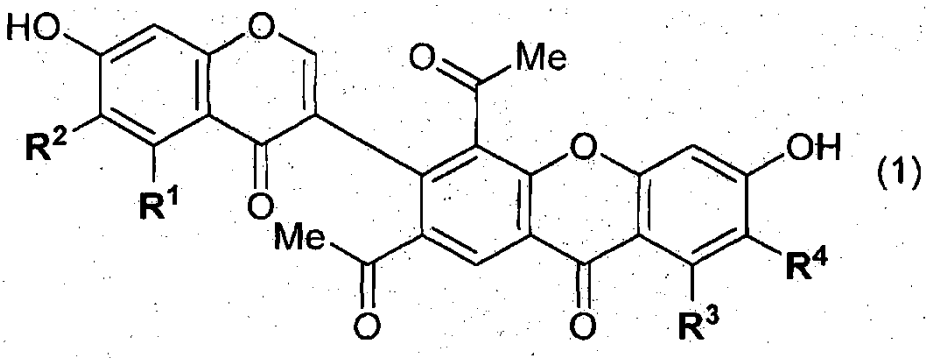
Por consiguiente, es un objeto de la presente invención proporcionar un agente terapéutico o preventivo para la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal, que comprende, como ingrediente activo, un compuesto de xantona que tiene actividad inhibidora de semaforina 3A. Es otro objeto de la presente invención proporcionar un promotor para la regeneración del nervio sensorial corneal, que comprende, como ingrediente activo, un compuesto de xantona que tiene actividad inhibidora de semaforina 3A.

Solución al problema

El nervio sensorial corneal es dañado por enfermedad corneal o queratoplastia causando con ello neuropatía sensorial. Como el nervio sensorial corneal es necesariamente desconectado por queratoplastia, se considera que éste es el modelo más extremo de daño del nervio sensorial corneal. El nervio sensorial corneal no puede ser realargado suficientemente en la córnea trasplantada y, como resultado, ocurre alteración sensorial. Los autores de la presente invención han pensado que la acción de la semaforina 3A que se expresa en el cristalino o la ectocórnea causaría un realargamiento insuficiente del nervio sensorial corneal. Los inventores han realizado estudios exhaustivos acerca de si el uso de un compuesto de xantona que tiene actividad inhibidora de semaforina 3A permite el realargamiento del nervio sensorial corneal y la mejoría de la alteración sensorial. Como resultado, los autores de la presente invención han dilucidado por primera vez que tal compuesto de xantona que tiene actividad inhibidora de semaforina 3A promueve la regeneración del nervio sensorial corneal modelo murino de queratoplastia. Así, los inventores han encontrado que tal compuesto de xantona que tiene actividad inhibidora de semaforina 3A es eficaz como agente terapéutico o como agente preventivo para la neuropatía sensorial corneal causada por daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal. La presente invención se ha completado como resultado de estudios exhaustivos realizados además en base a los hallazgos mencionados anteriormente.

De manera específica, la presente invención se refiere a los siguientes puntos [1] a [20]:

[1] Un agente que comprende, como ingrediente activo, un compuesto representado por la fórmula (1) siguiente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde R^1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo carboxilo; R^2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo; R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo carboxilo; y R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo;

para uso en un método que es:

(i) un método para el tratamiento o la prevención de la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal; o

(ii) un método para promover la regeneración del nervio sensorial corneal;

en donde el compuesto representado por la fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra por vía parenteral tópicamente a los ojos;

[2] El agente para uso de acuerdo con [1], en donde el nervio sensorial corneal ha sido desconectado o dañado en la neuropatía sensorial;

[3] El agente para uso de acuerdo con [1] o [2], en donde el método es un método para promover la regeneración del nervio sensorial corneal y un método para el tratamiento o la prevención de la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal;

[4] El agente para uso de acuerdo con [1], [2] o [3] anterior, en donde, en la fórmula (1), R^1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo carboxilo, R^2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo, R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo carboxilo, y R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo;

[5] El agente para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] o [4] anterior, en donde, en la fórmula (1), al menos uno de R^2 y R^4 representa un grupo hidroxilo;

[6] El agente para uso de acuerdo con [5] anterior, en donde, en la fórmula (1), R^2 representa un grupo hidroxilo;

[7] El agente para uso de acuerdo con [5] anterior, en donde, en la fórmula (1), R^2 y R^4 representan cada uno de ellos un grupo hidroxilo;

[8] El agente para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [7] anterior, en donde, en la fórmula (1), al menos uno de R^1 y R^3 representa un grupo carboxilo;

[9] El agente para uso de acuerdo con [8] anterior, en donde, en la fórmula (1), R^3 representa un grupo hidroxilo;

[10] El agente de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [3] anterior, en donde, en la fórmula (1), R^1 y R^3 representan cada uno de ellos un grupo carboxilo, y R^2 y R^4 representan cada uno de ellos un grupo hidroxilo;

[11] El agente para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [10] anterior, en donde la neuropatía sensorial es causada por enfermedad corneal y la enfermedad corneal es queratitis, leucoma, infección corneal, degeneración corneal, distrofia corneal, distrofia estromal corneal, queratopatía bullosa, queratocono, descompensación corneal, úlcera corneal, queratopatía neuroparalítica, queratopatía diabética, quemaduras químicas de la córnea, o quemaduras térmicas de la córnea;

[12] El agente para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [10] anterior, en donde la neuropatía sensorial es causada por cirugía corneal y la cirugía corneal es queratoplastia;

[13] El agente para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [10] anterior, en donde la neuropatía sensorial es causada por cirugía corneal y la cirugía corneal es cirugía correctora de la miopía;

[14] El agente para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [10] anterior, en donde la neuropatía sensorial es causada por cirugía corneal y la cirugía corneal tiene como objetivo la córnea y es requerida para el tratamiento de enfermedad ocular o lesión corneal;

[15] El agente para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [14] anterior, en donde la neuropatía sensorial causada por daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal es falta de percepción;

[16] El agente para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [14] anterior, en donde la neuropatía sensorial causada por daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal es ojo seco;

[17] El agente para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [16] anterior, que está en forma de una preparación oftálmica.

Efectos ventajosos de la invención

De acuerdo con la presente invención, ha sido posible tratar o prevenir la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal con el uso de un agente que comprende un compuesto de xantona que tiene actividad inhibidora de semaforina 3A como ingrediente activo. Es decir, de acuerdo con la presente invención, ha sido posible tratar o prevenir la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal, o la neuropatía sensorial causada por cirugía corneal tal como queratoplastia, cirugía correctora de la miopía o cirugía corneal que tiene como objetivo la córnea y es requerida para el tratamiento de enfermedad ocular o lesión corneal, y en particular, la neuropatía sensorial causada por daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal. Además, se ha precisado que, de acuerdo con la presente invención, un compuesto de xantona puede ser usado como promotor para la regeneración del nervio sensorial corneal, y también puede ser usado como promotor de la regeneración para tratar o prevenir la neuropatía sensorial causada por daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal.

Además, el compuesto de xantona usado en la presente invención es químicamente estable en extremo en una solución acuosa tal como un tampón fosfato. Cuando el presente compuesto de xantona se usa para tratamiento o prevención de la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal, o como promotor de la regeneración, la forma más preferible de uso es mediante administración de gotas oftálmicas. Por consiguiente, se ha precisado que el compuesto de xantona usado en la presente invención es extremadamente preferible porque es estable en las lágrimas o en la córnea después de su administración en forma de gotas oftálmicas.

Breve descripción de los dibujos

[Fig. 1] La Fig. 1 es una vista que muestra los resultados obtenidos midiendo la longitud de una fibra nerviosa regenerada en una córnea trasplantada por queratoplastia en el Ejemplo 1, a saber, un injerto de córnea [ensayo t de Student, comparación con un grupo testigo, *: $p < 0,01$]. El eje longitudinal indica el total de las longitudes de las fibras regeneradas. El eje horizontal indica un grupo de administración de vinaxantona (SPF-3059-5) y un grupo testigo (al que sólo se administró disolvente sin contener fármacos). A partir de la Fig. 1, se encuentra que la regeneración de las fibras nerviosas en el injerto de córnea se ha promovido por administración de vinaxantona.

[Fig. 2] Fig. 2 es una vista que muestra los resultados obtenidos midiendo la sensibilidad corneal en la porción central de un injerto de córnea usando un estesiómetro corneal Cochet-Bonnet cada semana después de la finalización de la cirugía, donde esta medición se llevó a cabo para evaluar la función del nervio regenerado en el Ejemplo 1 [ensayo U de Mann-Whitney, comparación con un grupo testigo, *: $p < 0,01$]. El eje longitudinal indica el nivel de sensibilidad corneal. El eje horizontal indica los resultados obtenidos 1 semana, 2 semanas, y 3 semanas después de la finalización del trasplante. En la Fig. 2, el círculo con relleno (●) indica un grupo de administración de vinaxantona, y el círculo sin relleno (○) indica un grupo testigo al que sólo se administró disolvente sin contener fármacos. A partir de la Fig. 2, se encuentra que la sensibilidad corneal mejoró por administración de vinaxantona. Como resultado de la mejora de la sensibilidad corneal, se encuentra que el nervio regenerado en el Ejemplo 1 fue principalmente el nervio sensorial corneal.

[Fig. 3] La Fig. 3 es una vista que muestra los resultados obtenidos midiendo el número de vasos sanguíneos que se han formado recientemente en el injerto de córnea trasplantado en el Ejemplo 1 [ensayo t de Student, no se encontró diferencia significativa en comparación con un grupo testigo]. El eje longitudinal indica un total de longitudes de los vasos sanguíneos recién formados. El eje horizontal indica un grupo de administración de vinaxantona (SPF-3059-5) y un grupo testigo (al que sólo se administró disolvente sin contener fármacos). A partir de la Fig. 3, se encuentra que la nueva formación de vasos sanguíneos en el injerto de córnea no fue promovido por administración de vinaxantona.

[Fig. 4] La Fig. 4 es una vista que muestra los resultados obtenidos midiendo la retención de vinaxantona en la córnea después de la administración en forma de gota oftálmica, donde la concentración de la solución de vinaxantona se ajustó a 0,5 mg/mL en el Ejemplo 2. La línea discontinua indica el valor de CI50 (75 ng/mL = 130 nM) obtenido en el experimento in vitro. El eje longitudinal indica la concentración de la vinaxantona retenida (ng/g). El número en el eje horizontal indica el nivel de retención de vinaxantona una vez que ha pasado cierto periodo de tiempo (p.ej. el número 0,5 indica el nivel de retención 0,5 horas después de la administración, el número 2 indica el nivel de retención 2 horas después de la administración, y el número 6 indica el nivel de retención 6 horas después de la administración). A partir de la Fig. 4, se encuentra que la vinaxantona que se había administrado a una concentración de 0,5 mg/mL en forma de gota oftálmica era retenida durante 0,5 horas después de la administración a una concentración en la córnea que se consideró que era necesaria para la expresión de los efectos del fármaco.

[Fig. 5] Al igual que la Fig. 4, la Fig. 5 es una vista que muestra los resultados obtenidos midiendo la retención de vinaxantona en la córnea después de la administración en forma de gota oftálmica, donde la concentración de la solución de vinaxantona se ajustó a 1,5 mg/mL en el Ejemplo 2.

[Fig. 6] Al igual que la Fig. 4, la Fig. 6 es una vista que muestra los resultados obtenidos midiendo la retención de vinaxantona en la córnea después de la administración en forma de gota oftálmica, donde la concentración de la solución de vinaxantona se ajustó a 5,0 mg/mL en el Ejemplo 2.

[Fig. 7] La Fig. 7 es una vista que muestra los resultados obtenidos midiendo la estabilidad de un compuesto de xantona en PBS (tampón fosfato) en el Ejemplo 10. El eje horizontal indica el nombre de cada compuesto usado en la medición. El eje longitudinal indica el porcentaje residual de cada compuesto. A partir de la Fig. 7, se encuentra que todos los compuestos de xantona excluidos de la fórmula (1) se descomponían casi por completo, mientras que los compuestos de xantona incluidos en la fórmula (1) permanecían en un porcentaje residual de 90% o más.

[Fig. 8] La Fig. 8 es una vista que muestra los resultados obtenidos midiendo un cambio a lo largo del tiempo en la estabilidad de la vinaxantona (SPF-3059-5) y SPF-3059-1 en PBS (tampón fosfato) en el Ejemplo 11. El eje horizontal indica el número de días que cada compuesto se conservaba después de la disolución. El eje longitudinal indica el porcentaje residual de cada compuesto. En la Fig. 8, el triángulo con relleno (▲) indica un cambio a lo largo del tiempo en la estabilidad de vinaxantona, y el círculo con relleno (●) indica un cambio a lo largo del tiempo en la estabilidad de SPF-3059-1. A partir de la Fig. 8, se encuentra que SPF-3059-1 se descomponía casi por completo

durante aproximadamente 1 semana, mientras que la vinaxantona permanecía en un porcentaje residual de 96% o más a 37°C en PBS durante 4 semanas o más, mostrando por tanto estabilidad durante 4 semanas o más tiempo.

Descripción de las realizaciones

En la presente memoria descriptiva, la expresión "grupo alcoxicarbonilo" se usa para referirse a un grupo alcoxicarbonilo lineal o ramificado que contiene 2 a 7 átomos de carbono. Ejemplos específicos del grupo alcoxicarbonilo incluyen un grupo metoxicarbonilo, un grupo etoxicarbonilo, un grupo propoxicarbonilo, un grupo 1-metiletoxicarbonilo, un grupo butoxicarbonilo, un grupo 1-metilpropoxicarbonilo, un grupo 2-metilpropoxicarbonilo, un grupo 1,1-dimetiletoxicarbonilo, un grupo pentiloxicarbonilo, y un grupo hexiloxicarbonilo.

La expresión "grupo aciloxi" se usa aquí para referirse a un grupo aciloxi lineal o ramificado que contiene 2 a 6 átomos de carbono. Ejemplos específicos del grupo aciloxi incluyen un grupo acetoxi, un grupo propioniloxi, un grupo butiriloxi, un grupo isobutiriloxi, un grupo valeriloxi, un grupo isovaleriloxi, y un grupo pivaloiloxi.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se usa aquí para referirse a una sal farmacéutica o veterinariamente aceptable. Ejemplos de dicha sal farmacéuticamente aceptable incluyen: sales básicas inorgánicas tales como una sal de sodio, una sal de potasio, una sal de calcio, una sal de magnesio, una sal de aluminio, y una sal de amonio; sales básicas orgánicas tales como una sal de trietilamonio, una sal de trietanolamonio, una sal de piridinio, y una sal de diisopropilamonio; y sales con aminoácidos básicos tales como arginina y lisina. Además, cuando el compuesto representado por la fórmula (1) tiene dos grupos carboxilo, por ejemplo, sales como una sal monosódica monopotásica también se incluyen en la presente sal farmacéuticamente aceptable.

Ejemplos de "enfermedad corneal" en la expresión "la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal" incluyen queratitis, leucoma (debido a herpes corneal, sarampión, sífilis, o lesión), infección corneal, degeneración corneal, distrofia corneal, distrofia estromal corneal, queratopatía bullosa, queratocono, descompensación corneal, úlcera corneal, queratopatía neuroparalítica, queratopatía diabética, quemaduras químicas de la córnea (causadas por un producto químico o similar que ha entrado en los ojos), y quemaduras térmicas de la córnea.

Ejemplos de "cirugía corneal" en la expresión "la neuropatía sensorial causada por cirugía corneal" incluyen queratoplastia, cirugía correctora de la miopía, y cirugía corneal que tiene como objetivo la córnea y es requerida para el tratamiento de enfermedad ocular o lesión corneal.

"Queratoplastia" también se conoce como trasplante de córnea para la plastia de la córnea. Ejemplos de dicha queratoplastia incluyen queratoplastia penetrante, queratoplastia laminar, queratoplastia laminar profunda, escleroqueratoplastia, trasplante de injerto escleral, trasplante de limbo corneal, y trasplante de amnios. Ejemplos de fines por los que realizar una queratoplastia incluyen un fin óptico, un fin terapéutico, un fin quirúrgico, y un fin cosmético. Ejemplos específicos de queratoplastia incluyen: queratoplastia realizada para tratar enfermedades causantes tales como queratitis, leucoma (debido a herpes corneal, sarampión, sífilis, o lesión), infección corneal, degeneración corneal, distrofia corneal, distrofia estromal corneal, queratopatía bullosa (ojos sometidos a la implantación de una lente intraocular, distrofia endotelial corneal de Fuchs, u ojos sin cristalino), queratocono, y descompensación corneal; queratoplastia realizada para tratar infecciones tales como úlcera corneal (úlcera bacteriana, fúngica, viral, o estéril); queratoplastia realizada para tratar lesión; queratoplastia realizada para tratar quemaduras químicas de la córnea o quemaduras térmicas de la córnea; y queratoplastia realizada para tratar queratitis neurotrófica tal como queratopatía diabética.

Ejemplos específicos de "cirugía correctora de la miopía" que se lleva a cabo actualmente incluyen queratotomía radial (RK), queractetomía fotorrefractiva (PRK), y moldeo de la córnea con ayuda del láser (LASIK). Además, los métodos de corrección de la miopía, como LASEK, anillos corneales intraestromales, lentes intracorneales, lente intraocular fáquica, y ortoqueratología, también se incluyen en la cirugía correctora de la miopía.

Ejemplos de "enfermedad ocular" en la expresión "cirugía corneal que tiene como objetivo la córnea y es requerida para el tratamiento de enfermedad ocular o lesión corneal" incluyen queratitis, herpes corneal, queratocono, degeneración corneal, leucoma, queratopatía bullosa, queratomalacia, y catarata.

Ejemplos de "lesión corneal" en la expresión "cirugía corneal que tiene como objetivo la córnea y es requerida para el tratamiento de enfermedad ocular o lesión corneal" incluyen lesiones causadas por un líquido irritante que entra en los ojos, por una partícula sólida que viaja en el aire y entra en los ojos, por corte con un objeto cortante, por incrustación un objeto punzante o similar, por un arañazo de un animal de compañía, por un uso indebido de la lente de contacto, por radiación fuerte, y por contusión.

Ejemplos de "cirugía corneal" en la expresión "cirugía corneal que tiene como objetivo la córnea y es requerida para el tratamiento de enfermedad ocular o lesión corneal" incluyen queratotomía, queratectomía, cirugía querato-refractiva, ortoqueratología y queratomileusis. Además, en un caso en el que la enfermedad ocular es cataratas, la operación quirúrgica que tiene como objetivo la córnea y es requerida para el tratamiento de cataratas incluye una operación para la inserción de una lente artificial (cristalino artificial).

Ejemplos de "neuropatía sensorial" en la expresión "la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal" incluyen reducción en el sentido del tacto y la sensación del dolor. La falta de reflejo de parpadeo es causada por falta de percepción, y ello puede dar como resultado ojos secos, globos oculares lesionados, etc. Por consiguiente, la "neuropatía sensorial" también incluye ojos secos. Hay que señalar que la expresión "nervio sensorial" se refiere a la distribución de los nervios sensoriales en la córnea, y por lo tanto, tiene el mismo significado que el nervio trigémino itinerante en la córnea (el nervio oftálmico itinerante en la córnea), a saber, el nervio sensorial corneal.

La expresión "promotor de la regeneración del nervio sensorial corneal" se usa para referirse a un fármaco que tiene la acción de promover la regeneración del nervio sensorial corneal. La expresión "acción de promover la regeneración del nervio sensorial corneal" se usa para referirse a la acción de promover la regeneración del nervio sensorial corneal que ha resultado desconectado o dañado por cirugía corneal o similares.

En el compuesto representado por la fórmula (1), R^1 y R^3 representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo carboxilo, o un grupo alcoxicarbonilo. Ejemplos de un grupo alcoxicarbonilo preferido incluyen grupos alcoxicarbonilo que contienen 2 a 4 átomos de carbono, tal como un grupo metoxicarbonilo, un grupo etoxicarbonilo, o un grupo propoxicarbonilo. Entre ellos, es más preferible un grupo metoxicarbonilo. Como R^1, es preferible un átomo de hidrógeno o un grupo carboxilo, y de estos, es más preferible un grupo carboxilo. Como R^3, es preferible un átomo de hidrógeno o un grupo carboxilo, y de estos, es más preferible un grupo carboxilo.

R^2 y R^4 representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, o un grupo aciloxi. Ejemplos de un grupo aciloxi preferido incluyen grupos aciloxi que contienen 2 a 4 átomos de carbono, tales como un grupo acetoxi, un grupo propioniloxi, un grupo butiriloxi, o un grupo isobutiriloxi. Entre ellos, es más preferible un grupo acetoxi. Como R^2, es preferible un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo, y de estos, es más preferible un grupo hidroxilo. Como R^4, es preferible un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo, y de estos, es más preferible un grupo hidroxilo.

Ejemplos específicos del compuesto representado por la fórmula (1) incluyen: SPF-3059-2 en el que R^1 es un grupo carboxilo, R^2 es un grupo hidroxilo, R^3 es un átomo de hidrógeno, y R^4 es un grupo hidroxilo; SPF-3059-4 en el que R^1 es un grupo carboxilo, R^2 es un grupo hidroxilo, R^3 es un grupo carboxilo, y R^4 es un átomo de hidrógeno; SPF-3059-5 en el que R^1 es un grupo carboxilo, R^2 es un grupo hidroxilo, R^3 es un grupo carboxilo, y R^4 es un grupo hidroxilo; SPF-3059-12 en el que R^1 es un grupo carboxilo, R^2 es un átomo de hidrógeno, R^3 es un grupo carboxilo, y R^4 es un grupo hidroxilo; SPF-3059-24 en el que R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un grupo hidroxilo, R^3 es un grupo carboxilo, y R^4 es un grupo hidroxilo; SPF-3059-25 en el que R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un grupo hidroxilo, R^3 es un grupo carboxilo, y R^4 es un átomo de hidrógeno; y SPF-3059-26 en el que R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un grupo hidroxilo, R^3 es un átomo de hidrógeno, y R^4 es un grupo hidroxilo. Entre estos compuestos, SPF-3059-5 es el más preferible. SPF-3059-5 también se conoce como vinaxantona.

Como sal farmacéuticamente aceptable del compuesto representado por la fórmula (1), son preferibles una sal sódica, un a sal potásica, y una sal de calcio porque estas sales tienen una solubilidad mejorada en agua y el pH de la solución no necesita ser ajustado. Entre estas sales, la más preferible es una sal sódica.

El compuesto representado por la fórmula (1) se puede obtener por cultivo o síntesis química total de Penicillium sp. cepa SPF-3059, o por conversión química de acuerdo con un método sintético conocido usando un producto obtenido por el cultivo o la síntesis total ya mencionados como material de partida.

Es decir, en el caso de aplicar un método de cultivo, el compuesto representado por la fórmula (1) se puede obtener de forma eficaz cultivando un moho perteneciente a Penicillium sp. aislado de la tierra en la prefectura de Osaka, es decir, una cepa SPF-3059 [en donde esta cepa se depositó bajo los términos del Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos a los fines del Procedimiento en materia de Patentes, con la Depositaria de Microorganismos para Patentes del NITE, el Instituto Nacional de Ciencia Industrial y Tecnología Avanzadas, una Institución Administrativa Independiente bajo el Ministerio de Economía, Comercio e Industria de Japón (AIST Tsukuba Central 6, Higashi 1-1-1, Tsukuba, Ibaraki, Japón, código postal: 305-8566), con nº de acceso. FERM BP-7663 a 13 de julio de 2001]. Expresamente, el compuesto representado por la fórmula (1) se puede obtener de acuerdo con el método descrito en la Publicación Internacional WO02/09756 (la bibliografía de patentes mencionada anteriormente 1) o en la Publicación Internacional WO03/062243 (la bibliografía de patentes mencionada anteriormente 2).

En el caso de aplicar síntesis total, el compuesto representado por la fórmula (1) se puede obtener de acuerdo con el método descrito en JP 2008-13530 A.

Entre los compuestos representados por la fórmula (1), un compuesto en el que al menos uno de R^1 y R^3 representa un grupo alcoxicarbonilo o al menos uno de R^2 y R^4 representa un grupo aciloxi se puede sintetizar efectuando una esterificación conocida sobre el compuesto representado por la fórmula (1) en la que el grupo alcoxicarbonilo concernido es un grupo carboxi, usado como material de partida, y/o efectuando una acilación conocida sobre el compuesto representado por la fórmula (1) en al que el grupo aciloxi concernido es un grupo hidroxilo, usado como material de partida, con lo que se efectúa la conversión química del compuesto. Dicha esterificación o acilación

conocida puede llevarse a cabo de acuerdo con el método descrito en JP 2006-335683 A o la Publicación Internacional WO03/062440 (la bibliografía de patentes 3 mencionada anteriormente).

Además, se puede obtener una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto representado por la fórmula (1) dejando que una base actúe sobre el compuesto representado por la fórmula (1) obtenido por uno cualquiera de los métodos descritos anteriormente en un disolvente adecuado tal como agua, metanol, etanol, acetona, acetato de etilo, cloroformo, o éter.

El compuesto representado por la fórmula (1) de la presente invención también se conoce como un compuesto de xantona. Como llegará a ser evidente en los Ejemplos 4 y 5 más adelante, este es un compuesto que tiene la acción de inhibir la actividad de alargamiento de neuritas de la semaforina 3A. Como llegará a ser evidente en El Ejemplo 2 más adelante, se ha dilucidado por primera vez por la presente invención que el compuesto de xantona representado por la fórmula (1) promueve la regeneración del nervio sensorial corneal en un modelo murino de queratoplastia. Por consiguiente, el compuesto de xantona presente es efectivo para el tratamiento o la prevención de la neuropatía sensorial corneal causada por daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal. Un ejemplo de la neuropatía sensorial causada por daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal es la reducción de la percepción táctil o el sentido del dolor. La falta de reflejo de parpadeo es causada por tal falta de percepción, y después da como resultado ojo seco, daño en los globos oculares, etc. Por consiguiente, el compuesto de xantona representado por la fórmula (1) es eficaz en particular para la prevención o el tratamiento de la reducción sensación táctil, sensación de dolor o similares, u ojos secos.

Como llegará a ser evidente en el Ejemplo 1 más adelante, el compuesto de xantona representado por la fórmula (1) promueve la regeneración del nervio sensorial corneal, y por tanto, también es eficaz como promotor de la regeneración del nervio sensorial corneal. La neuropatía sensorial causada por daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal puede tratarse o prevenirse promoviendo la regeneración del nervio sensorial corneal. Más específicamente, el compuesto de xantona representado por la fórmula (1) es eficaz para prevenir o tratar falta de percepción y ojos secos causados por el daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal.

El agente para uso en el tratamiento o la prevención de neuropatía sensorial corneal o para promover la regeneración del nervio sensorial corneal de acuerdo con la presente invención comprende, como ingrediente activo, el compuesto representado por la fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Además, se pueden añadir componentes aditivos usados para varios tipos de preparaciones, tales como un vehículo, aglutinante, estabilizante, excipiente, diluente, ajustador del pH, disgregante, solubilizante, agente solubilizante, y agente isotónico común farmacéuticamente aceptable, al presente agente terapéutico o preventivo o al presente promotor de la regeneración.

Los agentes para uso de acuerdo con la invención se administran tópicamente en los ojos por vía parenteral. Para la administración parenteral, los agentes se pueden procesar en una forma de dosificación tal como preparaciones oftálmicas, pomadas oftálmicas, inyecciones intraoculares, inyecciones subconjuntivales, preparaciones de inyección intravenosa (gotas), inyecciones intramusculares, inyecciones hipodérmicas, o preparaciones nasales (atomizadores para administración intranasal). Entre otros, son preferibles preparaciones oftálmicas. En el caso de preparaciones líquidas, los agentes pueden procesarse en soluciones, emulsiones, suspensiones o similares, según proceda. Entre otros, es preferible la solución para preparaciones oftálmicas que utiliza un tampón fosfato. Para la administración parenteral, un ingrediente activo puede disolverse o suspenderse en un vehículo fisiológicamente aceptable, tal como agua, una solución salina normal, el aceite, una solución acuosa de glucosa, etc., y la solución o suspensión así obtenida puede comprender un agente auxiliar tal como un emulgente, un estabilizante, una sal reguladora de la osmolaridad o un tampón, según proceda. En el caso de preparaciones oftálmicas, éstas pueden comprender aditivos que incluyen agentes isotonizantes tales como glicerina o cloruro sódico, tampones tales como ácido cítrico o ácido fosfórico, ajustadores del pH tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, espesantes tales como hidroxipropilmetilcelulosa o alcohol polivinílico, conservantes tales como cloruro de bencetonio, o solubilizantes, como sea necesario. Además, los ejemplos de aditivos para una pomada ocular incluyen vaselina, polietilenglicol, lanolina purificada y parafina líquida.

La dosis aplicada y la frecuencia de administración son diferentes dependiendo del método de administración, la edad, el peso corporal Y síntomas de un paciente, y similares. El agente se administra preferiblemente una o dos veces o más veces al día. Cuando se administra el agente dos o más veces al día, se desea administrar repetidamente el agente cada día o a intervalos apropiados. Como la regeneración del nervio sensorial corneal generalmente requiere un periodo de tiempo, que va de varios días a varios meses, se desea administrar continuamente el agente para suprimir la actividad de la semaforina durante el periodo de tiempo antes mencionado.

En relación con la dosis aplicada, el agente se puede administrar a una dosis de varios cientos de µg a 2 g, preferiblemente 5 a 100 mg, y más preferiblemente varias decenas de mg o menos, a un paciente adulto, referida a la cantidad de un ingrediente activo para una sola administración. El agente se puede administrar una vez o divididirse en varias administraciones al día. Con el fin de reducir la frecuencia de administración, también se puede utilizar una preparación de liberación sostenida. También es posible administrar el agente en pequeñas cantidades durante un largo período de tiempo utilizando una bomba osmótica o similar. En el caso de administración

parenteral, el agente se puede administrar a una dosis de 0,1 a 100 mg/día, y más preferiblemente de 0,3 a 50 mg/día, para un paciente adulto. El agente se puede administrar una vez o dividirse en varias administraciones al día. Con el fin de reducir la frecuencia de administración, también se puede utilizar una preparación de liberación sostenida.

En un caso en el que el agente se usa en forma de gota oftálmica, el agente se puede administrar a una dosis de 0,01 a 10 % p/v, y preferiblemente de 0,05 a 5% p/v, a un paciente adulto, referido a la cantidad de un ingrediente activo. Se desea administrar el agente en una cantidad de una a varias gotas de una sola administración de una a seis veces al día, dependiendo de los síntomas. Como será evidente en el Ejemplo 2 más adelante, el compuesto de xantona representado por la fórmula (1) es excelente en retención en la córnea cuando se administra como preparaciones oftálmicas. Por consiguiente, la forma de dosificación preferida del presente compuesto de xantona es preparados oftálmicos. Además, cuando se utiliza el presente compuesto de xantona en forma de pomadas oftálmicas, se puede administrar a una dosis de 0,01 a 10% p/p, y preferiblemente de 0,1 a 5% p/p, referido a la cantidad de un ingrediente activo de las mismas. Tal pomada ocular se administra deseablemente de una a seis veces al día, dependiendo de los síntomas.

En todos estos métodos de administración, es preferible adoptar una vía de administración y un método de administración que logren la concentración de compuesto que es suficiente para inhibir la actividad de semaforina en su sitio de acción. Además, el agente terapéutico o preventivo para la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal y el promotor para la regeneración del nervio sensorial corneal de acuerdo con la presente invención también se pueden utilizar como agentes para animales. Entre dichos animales, son preferibles los mamíferos, y el más preferible es el ser humano.

En lo sucesivo, la presente invención se concretará con más detalle en los siguientes ejemplos. Sin embargo, estos ejemplos no están destinados a limitar el alcance técnico de la presente invención.

Ejemplo 1

Acción de vinaxantona para promover la regeneración del nervio sensorial corneal en injerto de córnea en modelo de queratoplastia en ratones

En este experimento, se utilizaron ratones modificados genéticamente (ratón EGFP Floxado/P0-Cre), en el que las células del parénquima de la córnea, células endoteliales de la córnea, y los nervios expresaban un tipo de proteína fluorescente, proteína verde fluorescente (GFP), en la córnea. Usando estos ratones, las fibras nerviosas sensoriales de la córnea que viajan en la córnea pueden ser fácilmente observadas por la eliminación de una capa de células endoteliales de la córnea.

La córnea derivada de un ratón de tipo salvaje singénico fue trasplantada en cada uno de los ratones mencionados anteriormente. Después de esto, se administró a los ratones 50 µl de vinaxantona (que había sido disuelta en Rinderon (solución inyectable 1 mg/ml de betametasona fosfato sódico) a una concentración de 0,1 mg/ml) mediante inyección subconjuntival inmediatamente después de la finalización de la operación y luego, cada dos días en un total de 11 veces. A un grupo testigo se administró solo un disolvente que no contenía fármacos en la misma cantidad que se ha descrito antes. La retirada de la sutura se llevó a cabo una semana después de la finalización de la operación. Tres semanas después de finalizar la operación, se evaluó la sensibilidad corneal, los ratones se sometieron a eutanasia, y después se extirparon globos oculares. Se hizo una comparación en relación con la regeneración de las fibras nerviosas en el injerto de córnea. Se evaluó la sensibilidad corneal midiendo la sensibilidad corneal en el centro del injerto de córnea todas las semanas después de terminar la operación, usando un estesiómetro corneal Cochet-Bonnet. La comparación en relación con la regeneración de las fibras nerviosas en el injerto de córnea se llevó a cabo: determinando fibras en el injerto de córnea que eran doblemente positivas a β3 tubulina y GFP como fibras nerviosas regeneradas de acuerdo con un método de inmunotinción que utiliza un anticuerpo β3 tubulina; trazando las fibras nerviosas regeneradas utilizando el software de procesamiento de imágenes de un ordenador; midiendo un total de las longitudes de las mismas, y luego haciendo una comparación entre grupo de administración de vinaxantona y el grupo control.

A partir de los resultados mostrados en la Fig. 1, se constató que la regeneración de las fibras nerviosas en el injerto de córnea fue promovido en el grupo de administración de vinaxantona más significativamente que en el grupo control.

Además, de los resultados mostrados en la Fig. 2, se encontró que se observó la mejora del reflejo de parpadeo en el grupo de administración de vinaxantona más significativamente que en el grupo de control tres semanas después de finalizar de la operación, por lo que la sensibilidad corneal podría mejorarse en el grupo de administración de vinaxantona. Estos resultados sugirieron que los nervios regenerados indicados en la Fig. 1 eran principalmente los nervios sensoriales de la córnea.

Con respecto a la vascularización corneal, las fibras que exhibían positivo en un método de inmunotinción usando un anticuerpo CD31 se definieron como vasos sanguíneos recién formados, y los vasos sanguíneos recién formados fueron rastreados con un software de procesamiento de imágenes de un ordenador. Después de esto, se midieron

un total de las longitudes de las mismas, y luego se hizo una comparación entre el grupo de administración de vinaxantona y el grupo control.

A partir de los resultados mostrados en la Fig. 3, se constató que la vascularización de la córnea en el injerto no fue promovida en el grupo de administración de vinaxantona, en comparación con el grupo control.

Estos resultados demostraron que vinaxantona promueve la regeneración del nervio sensorial corneal desconectado, y también promueve la recuperación de la función nerviosa, es decir, la sensibilidad corneal. Además, se hizo evidente que vinaxantona no promueve la vascularización de la córnea, que es un fenómeno perjudicial.

Ejemplo 2

Evaluación de la retención de la preparación de vinaxantona en tejidos de la córnea

A conejos (Kbs: JW, sanos, machos, peso corporal: 2,00 a 2,49 kg) se administraron a cada uno 50 µL de una solución en PBS (tampón fosfato 0,12 M (pH 7,4)) de vinaxantona (0,5, 1,5 y 5,0 mg/mL) por administración de gotas oftálmicas sobre la córnea del ojo derecho, y sus ojos se cerraron a continuación durante 30 segundos. Después de esto, 0,5, 2, y 6 horas después de completar la administración, los conejos se sometieron a eutanasia y, a continuación, los globos oculares extirpados se lavaron con una solución salina normal. Después de esto, se recogió la córnea de cada globo ocular. Se homogeneizó la córnea y luego se extrajo vinaxantona de ella. Se examinó un cambio con el tiempo en el contenido y la concentración de vinaxantona en los tejidos corneales usando HPLC.

Por los resultados mostrados en las Figs. 4, 5, y 6, se confirmó que vinaxantona se transfirió a los tejidos corneales de una manera dependiente de la concentración/dosis aplicada. En el grupo de administración de la solución de 5,0 mg/mL de vinaxantona, se confirmó que vinaxantona se retenía en la córnea en una cantidad mayor que el valor IC_{50} (75 ng/ml = 130 nM, que se muestra la línea de puntos en cada figura) obtenido por un experimento in vitro (un experimento con respecto a la actividad inhibidora sobre la actividad de colapso de Sema3A en el Ejemplo 4), incluso 6 horas después de finalizar la administración. Se hizo evidente que la concentración de vinaxantona en la córnea, que se considera que es necesaria para la expresión de efectos de los medicamentos, se puede lograr incluso por administración de gotas en los ojos.

Como resultado, se sugirió que administración de gotas para los ojos es un método realista de la administración de vinaxantona.

Ejemplo 3

Producción del compuesto de xantona representado por la fórmula (1)

Los compuestos de xantona representados por la fórmula (1) de la presente invención son todos ellos compuestos conocidos, y se describen en la publicación internacional WO02/09756 (la bibliografía de patentes mencionada anteriormente 1), publicación internacional WO03/062243 (la bibliografía de patentes mencionada anteriormente 2), publicación internacional WO03/062440 (la bibliografía de patentes mencionada anteriormente 3), JP 2006-335683 A, y JP 2008-13530 A. Los presentes compuestos de xantona pueden ser producidos por cultivo, síntesis total química, o conversión química de la cepa SPF-3059. Además de los métodos de producción, las propiedades fisicoquímicas de los compuestos también se describen en la literatura de patentes antes mencionada. El método de producción y similares son concretamente como sigue.

Se vertieron 10 ml de un medio que contenía 2% de glucosa, 5% de sacarosa, 2% de polvo de semillas de algodón, 0,1% de nitrato de sodio, 0,1% de L-histidina, 0,05% de fosfato dipotásico, 0,07% de cloruro de potasio y 0,0014% de sulfato de magnesio heptahidratado, que se había ajustado para tener pH 7,0, en un matraz Erlenmeyer de 50 ml de capacidad, y después se esterilizó en un autoclave. En el medio resultante, se inoculó un asa de platino de la cepa SPF-3059 (FERM BP-7663) de Penicillium sp en cultivo inclinado, y la mezcla obtenida se sometió entonces a un cultivo de agitación rotatoria a 27 ° C a 180 rpm durante 4 días para obtener una pre-pre-cultivo. En cada uno de cinco matraces Erlenmeyer de 500 ml de capacidad, se vertieron 125 ml de un medio con la misma composición que se ha descrito anteriormente, y después se esterilizaron en un autoclave. A cada uno de los medios resultantes, se añadieron 4 ml de medio de pre-pre-cultivo y se les sometió entonces a un cultivo con agitación rotatoria a 27°C a 180 rpm durante 4 días para obtener un pre-cultivo. En un fermentador de jarra de 50 L de capacidad se vertieron 30 L de un medio que contenía 1,43% de glucosa, 3,57% de sacarosa, 1,43% de polvo de semilla de algodón, 0,07% de sulfato de sodio, 0,07% de L-histidina, 0,036% de fosfato dipotásico, 0,05% de cloruro de potasio, 0,001% de sulfato de magnesio heptahidratado y 0,01% de Adekanol LG-295 (un agente antiespumante, fabricado por ADEKA Corporation), que se había ajustado para estar a pH 7,0, y se después se sometió a esterilización con vapor de alta presión (121°C, 20 minutos). Después de esto, se añadieron 500 ml del medio de pre-cultivo descrito anteriormente al medio resultante, y la mezcla obtenida se sometió a cultivo con agitación y ventilación a 27°C a 400 rpm a un volumen de ventilación de 15 L/min durante 9 días.

Después de la terminación del cultivo, el medio de cultivo se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos para separar un sobrenadante de una masa de células. La fracción sobrenadante se extrajo dos veces con 20 L de acetato de etilo-ácido fórmico (99:1). La fracción de la masa de células se extrajo con 30 L de acetona, y a

continuación se filtró y se concentró. La solución acuosa resultante se extrajo con 10 L de acetato de etilo-ácido fórmico (99:1). Los dos extractos anteriores se mezclaron entre sí, y la mezcla obtenida se sometió luego a concentración al vacío para obtener 224 g de un extracto bruto. Se disolvieron 100 g del extracto crudo en 500 ml de etanol. Después, la solución obtenida se sometió a cromatografía en columna utilizando Sephadex (marca registrada) LH-20 (GE Healthcare), y se eluyó a continuación con metanol. Las fracciones activas se reunieron, y el disolvente se separó por destilación a continuación a presión reducida para obtener 48,8 g de un producto oleoso. El producto oleoso obtenido se disolvió en 400 ml de metanol. A continuación, el producto resultante se sometió a cromatografía en columna usando gel TSK TOYOPEARL HW-40F (Tosoh Corporation), y después se eluyó con metanol. Las fracciones activas se reunieron, y el disolvente se separó por destilación a presión reducida para obtener 21,8 g de un producto purificado en forma tosca. Este producto se disolvió en porciones de 200 mg cada vez en 2 ml de dimetil sulfóxido (DMSO), y la solución obtenida se sometió entonces a HPLC de separación de fase inversa. Las condiciones para la HPLC de separación de fase inversa fueron los siguientes. Columna: Wakopak-Wakosil (marca registrada) -II5C18HGprep (5 cm de diámetro x 10 cm conectadas con 5 cm de diámetro x 25 cm, fabricada por Wako Pure Chemical Industries Ltd.), eluyente A: 1% de solución acuosa de ácido fórmico, eluyente B: metanol, gradiente: un gradiente lineal en el que el porcentaje de la solución B era 45% → 75% durante 2 horas, caudal: 25 ml/min, y detección: absorbancia a 260 nm. El eluyente se separó cada minuto.

Las fracciones así separadas se analizaron por HPLC analítica. Las condiciones para el análisis HPLC fueron las siguientes. Columna: Wakopak-Wakosil (marca registrada) -II5C18RS (4,6 mm de diámetro x 150 mm, fabricado por Wako Pure Chemical Industries Ltd.), eluyente A: 1% de solución acuosa de ácido fórmico, eluyente B: metanol, gradiente: un gradiente lineal en el que el porcentaje de la solución B era 20% → 67% durante 71,1 horas, caudal: 1,3 ml/min, y detección: absorbancia a 260 nm. Usando el tiempo de retención en esta HPLC analítica como un indicador, se reunieron las fracciones de elución de HPLC de separación, y el disolvente se separó por destilación a presión reducida. El residuo se sometió a HPLC de separación de nuevo, y la purificación se llevó a cabo entonces de la misma manera descrita anteriormente. El producto resultante se sometió adicionalmente a cromatografía en columna utilizando TSKgel TOYOPEARL HW-40F (Tosoh Corporation), y la purificación se llevó a cabo de la misma manera que la descrita anteriormente. El disolvente se separó por destilación a presión reducida, y el residuo se secó luego para obtener un producto purificado del compuesto deseado.

Los compuestos obtenidos concretamente y sus propiedades físico-químicas son las siguientes.

SPF-3059-2

- Apariencia: polvo de color crema

- Espectro de masas por bombardeo de electrones de alta resolución y alta velocidad (HRFAB-MS) m/z $(M+H)^+$: Valor de medición real: 533,0710, Valor teórico: 533,0721

- Fórmula molecular: $C_{27}H_{16}O_{12}$

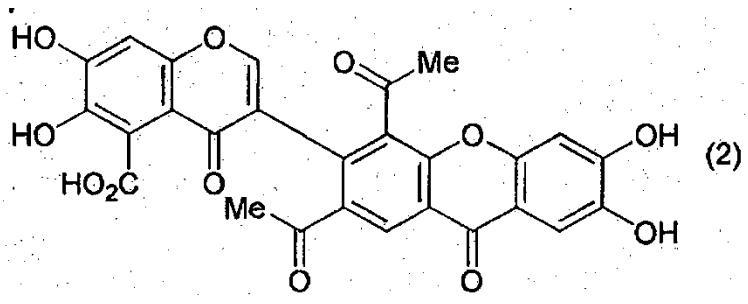
- Espectro de absorción ultravioleta-visible λmax (en metanol) nm (ε): 209 (40.600), 236 (42.600), 283 (28.500), 323 (25.400)

- Espectro de absorción infrarroja vmax (KBr)cm^{-1}: 3266, 1678, 1654, 1623, 1562, 1471, 1296

- ^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 2,53 (6H, s), 6,93 (1H, s), 6,95 (1H, s), 7,47 (1H, s), 8,15 (1H, s), 8,54 (1H, s), 9,38 (1H, s ancho), 9,89 (1H, s ancho), 10,78 (1H, s ancho), 11,37 (1H, s ancho), 12,68 (1H, s ancho)

- ^{13}C-NMR(DMSO-d_6) δ ppm: 29,1, 32,1, 102,3, 103,1, 108,7, 112,5, 113,5, 119,6, 119,8, 120,9, 126,2, 132,4, 133,6, 136,1, 141,7, 144,5, 150,71,150,74, 152,49, 152,54, 152,7, 154,4, 167,4, 172,9, 173,4, 199,2, 201,2

Sobre la base de los datos anteriores, la fórmula estructural del compuesto SPF-3059-2 se determinó que era la siguiente fórmula (2).

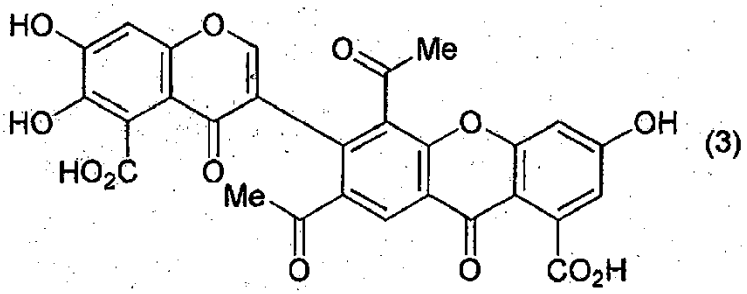


(2)

SPF-3059-4

- Apariencia: polvo de color crema
- Peso molecular: 560
- Fórmula molecular: $C_{28}H_{16}O_{13}$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones a alta velocidad (FAB-MS) m/z (positivo): 561 $(M+H)^+$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones a alta velocidad (FAB-MS) m/z (negativo): 559 $(M-H)^-$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones de alta resolución y alta velocidad (HRFAB-MS) m/z $(M+H)^+$: Valor de medición real: 561,0667, Valor teórico: 561,0670 ($C_{28}H_{17}O_{13}$)
- Espectro de absorción ultravioleta-visible λmax (en metanol) nm (ε): 221 (35.600), 250 (38.100), 276 hombro (25.800), 323 (24.300)
- Espectro de absorción infrarroja vmax (KBr)cm^{-1}: 3412, 1665, 1619, 1563, 1465, 1427, 1263
- ^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 2,53 (3H, s), 2,56 (3H, s), 6,84 (1H, d, 2,1), 6,95 (1H, s), 6,96 (1H, d, 2,1), 8,17 (1H, s), 8,52 (1H, s), 10,10-11,40 (3H, s ancho), 12,71 (1H, s ancho), 13,26 (1H, s ancho)
- ^{13}C-NMR(DMSO-d_6) δ ppm: 29,2, 32,1, 102,3, 103,2, 110,1, 112,4, 112,8, 119,6, 120,3, 120,8, 126,3, 133,1, 133,4, 136,7, 137,5, 141,7, 150,8, 152,3, 152,7, 152,8, 157,2, 163,9, 167,4, 69,3, 172,2, 172,9, 199,3, 201,0
- Solubilidad: Insoluble en agua y hexano, soluble en metanol y DMSO

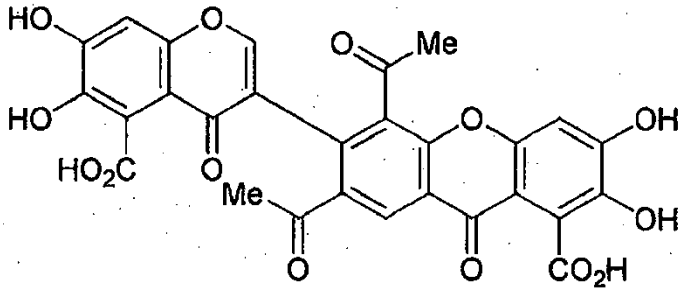
Sobre la base de los datos anteriores, la fórmula estructural del compuesto SPF-3059-4 se determinó que era la siguiente fórmula (3).



SPF-3059-5 (vinaxantona)

- Apariencia: polvo de color crema
- Espectro de masas por bombardeo de electrones de alta resolución y alta velocidad (HRFAB-MS) m/z $(M+H)^+$: Valor de medición real: 577,0615, Valor teórico: 577,0619
- Fórmula molecular: $C_{28}H_{16}O_{14}$
- Espectro de absorción ultravioleta-visible λmax (en metanol) nm (ε): 229 (35.800), 284 (22.600), 322 (21.000)
- Espectro de absorción infrarroja vmax (KBr)cm^{-1}: 3260, 1684, 1626, 1567, 1467, 1288
- ^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 2,53 (3H, s), 2,55 (3H, s), 6,93 (1H, s), 6,96 (1H, s), 8,17 (1H, s), 8,53 (1H, s), 9,5-13,0 (6H)
- ^{13}C-NMR(DMSO-d_6) δ ppm: 29,1, 32,1, 102,26, 102,32, 109,9, 112,4, 119,6, 119,8, 120,3, 120,9, 126,3, 132,5, 133,4, 136,2, 141,2, 141,7, 150,4, 150,8, 152,1, 152,68, 152,73, 154,5, 167,4, 167,5, 172,5, 172,9, 199,1, 201,1

Sobre la base de los datos anteriores, la fórmula estructural del compuesto SPF-3059-5 (vinaxantona) se determinó que era la siguiente fórmula (4).

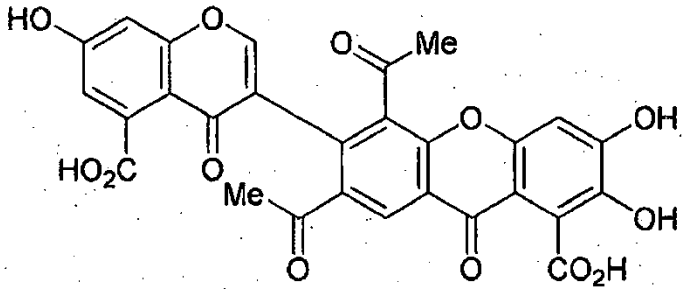


(4)

SPF-3059-12

- Apariencia: polvo de color crema
- Peso molecular: 560
- Fórmula molecular: $C_{28}H_{16}O_{13}$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones a alta velocidad (FAB-MS) m/z (positivo): 561 $(M+H)^+$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones a alta velocidad (FAB-MS) m/z (negativo): 559 $(M-H)^-$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones de alta resolución y alta velocidad (HRFAB-MS) m/z $(M+H)^+$: Valor de medición real: 561,0680, Valor teórico: 561,0670 ($C_{28}H_{17}O_{13}$)
- Espectro de absorción ultravioleta-visible λmax (en metanol) nm (ε): 232 (37.400), 250 hombro (34.800), 285 (28.000), 308 hombro (23.200), 360 hombro (9.000)
- Espectro de absorción infrarroja vmax (KBr)cm^{-1}: 3080, 1698, 1608, 1468, 1291
- ^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 2,54 (3H, s), 2,55 (3H, s), 6,82 (1H, d, 2,1), 6,87 (1H, s), 6,95 (1H, d, 2,1), 8,22 (1H, s), 8,55 (1H, s), 9,50-13,50 (5H, s ancho)
- ^{13}C-NMR(DMSO-d_6) δ ppm: 29,1, 32,2, 102,1, 103,0, 109,4, 112,1, 113,5, 119,8, 120,0, 121,7, 126,6, 132,0, 133,3, 135,9, 136,7, 141,7, 150,6, 152,1, 153,0, 155,4, 157,6, 162,4, 167,4, 167,6, 172,2, 172,9, 199,1, 201,1
- Solubilidad: Insoluble en agua y hexano, soluble en metanol y DMSO

Sobre la base de los datos anteriores, la fórmula estructural del compuesto SPF-3059-12 se determinó que era la siguiente fórmula (5).



(5)

SPF-3059-24

- Apariencia: polvo de color crema
- Peso molecular: 532
- Fórmula molecular: $C_{27}H_{16}O_{12}$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones a alta velocidad (FAB-MS) m/z (positivo): 533 $(M+H)^+$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones a alta velocidad (FAB-MS) m/z (negativo): 531 $(M-H)^-$

- Espectro de masas por bombardeo de electrones de alta resolución y alta velocidad (HRFAB-MS) m/z $(M+H)^+$: Valor de medición real: 531,0621, Valor teórico: 531,0564 ($C_{27}H_{17}O_{12}$)

- Espectro de absorción ultravioleta-visible λmax (en metanol) nm (ε): 212 (36.900), 229 hombro (34.500), 283 (26.300), 323 (21.700)

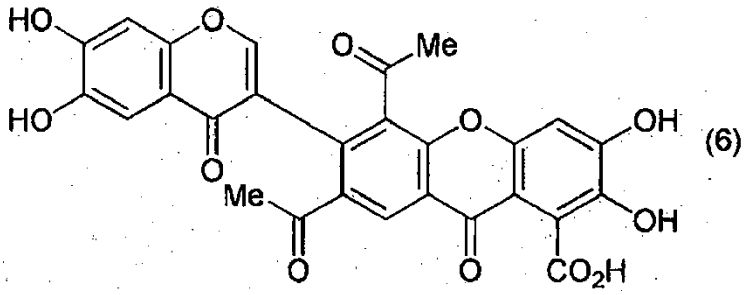
- Espectro de absorción infrarroja vmax (KBr)cm^{-1}: 3447, 1697, 1629, 1578, 1470, 1290

- ^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 2,52 (3H, s), 2,54 (3H, s), 6,92 (1H, s), 6,93 (1H, s), 7,28 (1H, s), 8,13 (1H, s), 8,54 (1H, s), 9,50-13,00 (5H, s ancho)

- ^{13}C-NMR (DMSO-d6) δ ppm: 29,1, 32,3, 102,3, 102,9, 107,9, 110,0, 115,8, 119,8, 120,4, 120,7, 126,5, 133,0, 133,3, 136,0, 141,2, 145,0, 150,4, 151,1, 152,2, 152,9, 153,0, 154,3, 167, 172,6, 173,6, 199,1, 201,1

- Solubilidad: Insoluble en agua y hexano, soluble en metanol y DMSO

Sobre la base de los datos anteriores, la fórmula estructural del compuesto SPF-3059-24 se determinó que era la siguiente fórmula (6).



(6)

SPF-3059-25

- Apariencia: polvo de color crema

- Fórmula molecular: $C_{27}H_{16}O_{11}$

- Espectro de masas por bombardeo de electrones a alta velocidad (FAB-MS) m/z (positivo): 517 $(M+H)^+$

- Espectro de masas por bombardeo de electrones a alta velocidad (FAB-MS) m/z (negativo): 515 $(M-H)^-$

- Espectro de masas por bombardeo de electrones de alta resolución y alta velocidad (HRFAB-MS) m/z $(M+H)^+$: Valor de medición real: 517,0778, Valor teórico: 517,0771 ($C_{27}H_{17}O_{11}$)

- Espectro de absorción ultravioleta-visible λmax (en metanol) nm (ε): 215 (35.000), 253 (35.100), 276 hombro (25.200), 323 (23.400)

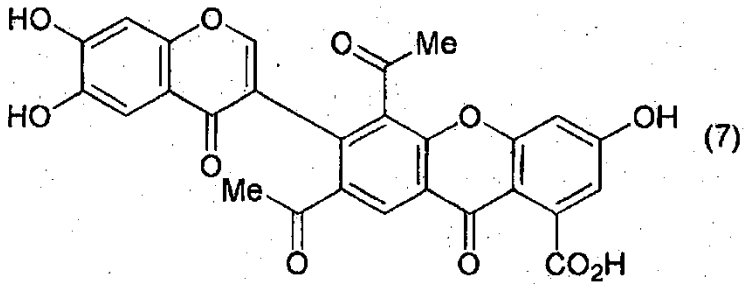
- Espectro de absorción infrarroja vmax (KBr)cm^{-1}: 3417, 1691, 1625, 1471, 1293

- ^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 2,54 (6H, s), 6,82 (1H, s ancho), 6,92 (2H, s ancho), 7,27 (1H, s), 8,14 (1H, s), 8,53 (1H, s), 9,5-14,0 (4H, s ancho)

- ^{13}C-NMR(DMSO-d_6) δ ppm: 29,2, 32,3, 102,9, 103,0, 107,8, 109,9, 113,0, 115,7, 120,4, 120,6, 126,4, 133,3, 133,4, 136,4 (2c), 145,0, 151,2, 152,3, 152,98, 153,01, 157,3, 164,2, 169,4, 172,6, 173,6, 199,2, 201,0

- Solubilidad: Insoluble en agua y hexano, soluble en metanol y DMSO

Sobre la base de los datos anteriores, la fórmula estructural del compuesto SPF-3059-25 se determinó que era la siguiente fórmula (7).

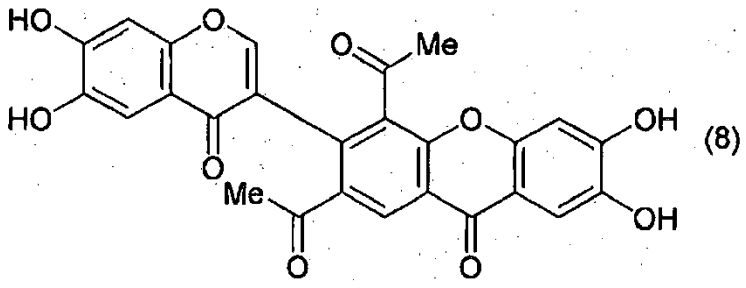


(7)

SPF-3059-26

- Apariencia: polvo de color crema
- Peso molecular: 488
- Fórmula molecular: $C_{26}H_{16}O_{10}$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones a alta velocidad (FAB-MS) m/z (positivo): 489 $(M+H)^+$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones a alta velocidad (FAB-MS) m/z (negativo): 487 $(M-H)^-$
- Espectro de masas por bombardeo de electrones de alta resolución y alta velocidad (HRFAB-MS) m/z $(M+H)^+$: Valor de medición real: 489,0823, Valor teórico: 489,0822 ($C_{26}H_{17}O_{10}$)
- Espectro de absorción ultravioleta-visible λmax (en metanol) nm (ε): 212 (31.500), 235 (30.900), 284 (23.900), 324 (19.500)
- Espectro de absorción infrarroja vmax (KBr)cm^{-1}: 3454, 1694, 1625, 1517, 1471, 1293
- ^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ ppm: 2,53 (3H, s), 2,54 (3H, s), 6,91 (1H, s), 6,92 (1H, s), 7,27 (1H, s), 7,47 (1H, s), 8,11 (1H, s), 8,57 (1H, s ancho)
- ^{13}C-NMR(DMSO-d_6) δ ppm: 29,1, 32,2, 102,9, 103,0, 107,9, 108,5, 113,3, 115,7, 119,8, 120,7, 126,3, 132,7, 133,5, 135,8, 144,6, 145,0, 150,8, 151,1, 152,5, 152,9 (2c), 154,7, 173,3, 173,6, 199,1, 201,2
- Solubilidad: Insoluble en agua y hexano, soluble en metanol y DMSO

Sobre la base de los datos anteriores, la fórmula estructural del compuesto SPF-3059-26 se determinó que era la siguiente fórmula (8).



(8)

Ejemplo 4

Actividad inhibidora del compuesto de xantona sobre la actividad de colapso de Sema3A

Una placa de 96 pocillos recubiertos de polilisina (Sumitomo Bakelite Co., Ltd.) se revistió adicionalmente con laminina (20 µg/ ml de laminina, temperatura ambiente, 1 hora). Después, a cada pocillo se añadieron 100 µl de un medio (medio F12 que contenía 10% de suero vacuno fetal, 20 ng/ml de NGF, 100 unidades/ml de penicilina, y 100 µg/ml de estreptomicina). Después de esto, un ganglio de la raíz dorsal extirpado de un embrión de pollo de 7 días de edad, se inoculó en el pocillo resultante, y la mezcla obtenida se cultivó a continuación en condiciones que consistían en 16 a 20 horas, 5% de CO_2 y 37°C. Después de esto, los compuestos descritos en el Ejemplo 3 anterior se añadieron a diferentes concentraciones cada uno al cultivo resultante, y la mezcla obtenida se cultivó después

durante 1 hora. Después de esto, se añadieron 2 unidades/ml de semaforina de ratón 3A (Sema3A) al cultivo, y la mezcla obtenida se cultivó adicionalmente durante 1 hora. Una hora después de iniciar el cultivo, se añadió glutaraldehído al cultivo, de manera que rápidamente pudo alcanzar una concentración final de 1%. A continuación, la mezcla obtenida se dejó a una temperatura ambiente durante 15 minutos para fijar un corte de tejido. Después de esto, del porcentaje del cono de crecimiento retraído se midió con un microscopio. Un pocillo, al que no se había añadido Sema3A, se utilizó como control. El porcentaje de retracción del cono de crecimiento en un grupo de control negativo (al que no se añadió ni el compuesto ni Sema3A) se definió como (A)%; el porcentaje de retracción del cono de crecimiento en un grupo de control positivo (a la que no se había añadido el compuesto, pero fue añadido Sema3A) se definió como (B)%; y el porcentaje de retracción del cono de crecimiento en un grupo de ensayo (al que fueron añadidos tanto el compuesto como Sema3A) se definió como (C)%. La concentración de cada compuesto que mantenía la fórmula C = (A + B) / 2 se definió como un valor de CI50. Los resultados se muestran a continuación. A partir de los resultados obtenidos, se encuentra que los compuestos del Ejemplo 3 inhiben cada uno fuertemente la semaforina 3A.

[Tabla 1]

Compuesto	CI_{50} (µg/ml)
SPF-3059-2	<0,1
SPF-3059-4	2,0
SPF-3059-5	0.075
SPF-3059-12	2,0
SPF-3059-24	0,1
SPF-3059-25	4,0
SPF-3059-26	0,2

Ejemplo 5

Acción del compuesto de xantona para suprimir la actividad inhibidora del alargamiento de neuritas de la semaforina 3A

Una masa de células COS7 que expresaba Sema 3A y ganglio de la raíz dorsal de embrión de pollo de 7 u 8 días de edad se sometieron a co-cultivo en gel de colágeno (Neuroprotocols 4, 116, 1994), y se examinó si cada uno de los compuestos del Ejemplo 3 presentaba una acción para inhibir continuamente Sema3 A. La masa de células COS7 que expresaba Sema3Afue producida por el método siguiente. A saber, usando reactivo de transfección FuGENE6 (Roche), se introdujo 1 µg de un plásmido de expresión de Sema3Aen células COS7 (100.000 células/placa de cultivo de 35 mm) que se había cultivado durante toda la noche. Las células se retiraron de la placa de cultivo usando tripsina 2,5 horas después del inicio de la transfección, y después se reunieron por centrifugación. Las células recogidas se suspendieron de nuevo en200 µl de un medio. Después de esto, se añadieron 20 µl de la suspensión de células a la tapa (lado interno) de la placa de cultivo, y después la tapa se invirtió, y seguidamente se realizó un cultivo de 20 horas (cultivo de gota en suspensión) (Cell, 78, 425, 1994). Después de completarse el cultivo, la masa celular COS7 coagulada se recuperó en un medio y después se recortó a un tamaño de 0,5 mm de diámetro. Esta masa celular COS7 que expresa Sema 3A y el ganglio de la raíz dorsal descrito anteriormente se colocaron en gel de colágeno al 0,2% con una distancia de 0,5 a 1 mm entre ellos, y este gel de colágeno fue entonces cultivado a 37°C en 5% de CO_2 durante 2 días en un medio que contenía cada uno de los compuestos anteriormente mencionados en diferentes concentraciones. Posteriormente, se añadió glutaraldehído al cultivo, de tal manera que rápidamente pudo alcanzar una concentración final de 1%. A continuación, la mezcla obtenida se dejó a temperatura ambiente durante 1 hora para fijar una sección de tejido. Después de esto, el alargamiento de las neuritas se midió con un microscopio.

En el gel de colágeno descrito anteriormente, se secretó Sema3A a partir de la masa de células COS7 en las que se había introducido el plásmido que expresa Sema3A, y se formó un gradiente de concentración (en el que cuanto más cerca de la masa de células COS7, mayor será la concentración). Cuando se utilizó un medio que no contenía los compuestos de ensayo, la neurita no podía ser alargada en una dirección en la que la masa de células COS7 estaba presente y por tanto la concentración de Sema3A era alta, y se alargaba sólo en una dirección opuesta.

Cuando los compuestos del Ejemplo 3 se añadieron cada uno a un medio, se observó el alargamiento de las neuritas en una dirección en la que estaba presente la masa de células COS7 que expresaba Sema3A.

Un caso en el que las neuritas eran alargadas en una forma completamente concéntrica, como en el caso del grupo control usando células COS7 que no expresaban Sema3A, se indica con el símbolo +++ (fuerte efecto inhibidor de Sema3A). Un caso en el que las neuritas eran alargadas en una forma casi concéntrica pero su alargamiento al lado de las células COS7 que expresan Sema3A está ligeramente suprimido, se indica con el símbolo ++. Un caso en el que el alargamiento de neuritas en una forma semiluminar al lado de las células COS7 que expresan Sema3A está considerablemente suprimido, se indica con el símbolo +. Un caso en el que no hay alargamiento de neuritas al lado de las células COS7 que expresan Sema 3A, se indica con - (ningún efecto inhibidor de Sema3A). Los resultados de las mediciones se muestran a continuación.

[Tabla 2]

Compuesto	Concentración del compuesto de ensayo (µg/ml)				
	0,5	1,0	2,0	6,0	20
SPF-3059-2	+	++	+++	NE	NE
SPF-3059-4	NE	NE	-	+	++
SPF-3059-5	+	++	++	NE	NE
SPF-3059-12	NE	NE	+	+	++
PBS (control)	-	-	-	-	-
(NE = no ensayado: no evaluado)					

Ejemplo 6

Ejemplo preparativo 1

La siguiente composición se suspende en 100 ml de agua purificada estéril, y la suspensión se ajusta luego a pH 7,0 a una concentración hecha isotónica con lágrimas, a fin de preparar preparaciones oftálmicas.

SPF-3059-5	50 mg
Dihidrógeno fosfato de potasio	cantidad adecuada
Hidrógeno fosfato disódico	cantidad adecuada
Sal común	cantidad adecuada
Cloruro de bencetonio	10 mg
Agua purificada estéril	cantidad adecuada

Ejemplo 7

Ejemplo preparativo 2

La siguiente composición se suspende en 100 ml de agua purificada estéril, y la suspensión se ajusta luego a pH 7,0 a una concentración hecha isotónica con lágrimas, a fin de preparar preparaciones oftálmicas.

SPF-3059-5	50 mg
Dihidrógeno fosfato de potasio	cantidad adecuada
Hidrógeno fosfato disódico	cantidad adecuada
Sal común	cantidad adecuada
Cloruro de bencetonio	10 mg
Agua purificada estéril	cantidad adecuada

Ejemplo 8

Ejemplo preparativo 3

De acuerdo con un método común para la producción de pomadas oftálmicas, se pueden preparar pomadas oftálmicas con la siguiente formulación.

SPF-3059-5	50 mg
Parafina líquida	10 g
Vaselina blanca	cantidad adecuada

Ejemplo 9

Ejemplo preparativo 4

De acuerdo con un método común para la producción de pomadas oftálmicas, se pueden preparar pomadas oftálmicas con la siguiente formulación.

SPF-3059-5	50 mg
Parafina líquida	10 g
Vaselina blanca	cantidad adecuada

Ejemplo 10

Estabilidad del compuesto de xantona en PBS (tampón fosfato)

SPF-3059-2, SPF-3059-5, SPF-3059-24 y SPF-3059-26, que son compuestos de xantona incluidos en la fórmula (1), y SPF-3059-1, SPF-3059-3, SPF-3059-9 y SPF-3059-30, que son compuestos de xantona no incluidos en la fórmula (1), se disolvieron cada uno en PBS (Dulbecco's PBS(-), concentración de ácido fosfórico: 10 mM) a una concentración de 100 µg/ml. (Las fórmulas estructurales, los métodos de producción y las propiedades físico-químicas de los compuestos SPF-3059-1, SPF-3059-3, SPF-3059-9 y SPF-3059-30 se describen en la publicación internacional WO02/09756 (la bibliografía de patentes mencionada anteriormente 1)). Cada solución obtenida se conservó a 37°C. Cuatro semanas más tarde, la cantidad que permanecía de cada compuesto se cuantificó por HPLC, y entonces se obtuvo el porcentaje de permanencia, por lo que se evaluó la estabilidad del compuesto xantona a 37 ° C en PBS. Las condiciones HPLC fueron las siguientes. Columna: Wakopak-Wakosil (marca registrada) -II5C18RS (4,6 mm de diámetro x 150 mm, fabricado por Wako Pure Chemical Industries Ltd.), eluyente A: 1% de solución acuosa de ácido fórmico, eluyente B: metanol, gradiente: un gradiente lineal en el que el porcentaje de la solución B era 30% → 70% durante 60 minutos, caudal: 1,0 ml/min, y detección: absorbancia a 260 nm.

Los resultados obtenidos mediante la evaluación de la estabilidad de los compuestos de xantona en PBS se muestran en la Fig. 7. Según los resultados mostrados en la Fig. 7, se encuentra que los 4 tipos de compuestos de xantona incluidos en la fórmula (1) presentaron un porcentaje de permanencia de 90% o más. Por otro lado los 4 tipos de compuestos de xantona que no están incluidos en la fórmula (1) se descompusieron en casi cantidades totales de los mismos.

Ejemplo 11

Estabilidad de vinaxantona en PBS (tampón fosfato)

Se disolvieron cada uno de Vinaxantona (SPF-3059-5) y SPF-3059-1 en PBS (Dulbecco's PBS(-)) a una concentración de 100 µg/ml. Las soluciones obtenidas se conservaron a 37°C, y la cantidad de agente que permanecía en la solución se cuantificó por HPLC en puntos de tiempo individuales desde el inicio de la conservación hasta 4 semanas después del inicio de la conservación, para examinar un cambio a lo largo del tiempo en los porcentajes de permanencia. Se aplicaron las mismas condiciones de HPLC que las del Ejemplo 10.

Se evaluó la estabilidad de vinaxantona (SPF-3059-5) y SPF-3059-1 en PBS. Los resultados se indican en la Fig. 8. A partir de los resultados indicados en la Fig. 8, se encuentra que vinaxantona (SPF-3059-5) que es un compuesto de xantona incluido en la fórmula (1) permanecía en PBS a 37°C a un porcentaje de permanencia de 96% o más hasta 4 semanas después del inicio de la conservación, y por tanto que este compuesto era estable durante 4 semanas o más. Por otro lado, SPF-3059-1 se descompuso en una cantidad casi total del mismo durante aproximadamente 1 semana.

Ejemplo 12

Análisis en cuanto al cambio en el contenido del compuesto de la presente invención en las lágrimas y en la córnea

Para el tratamiento de daño en los nervios de la córnea, lo más preferible es la administración de gotas oculares del agente. Por lo tanto, es importante analizar un cambio en el contenido del agente en las lágrimas y / o en la córnea después de la administración de gotas oculares del agente. El análisis de un cambio en el contenido del agente puede llevarse a cabo, por ejemplo, de acuerdo con el siguiente método de ensayo.

[Método de ensayo]

Los compuestos representados por la fórmula (1) de la presente invención (por ejemplo, SPF-3059-5; abreviada en lo sucesivo como el compuesto de la presente invención) y los compuestos diana (compuestos que no están incluidos en la fórmula (1), tales como la SPF-3059-1 antes mencionada) se analizaron en términos de un cambio en el contenido del mismo. Es decir, cada compuesto se disolvió en PBS a una concentración de 0,1 mg / ml a 1 mg / mL. 10 µL de cada uno de una solución del compuesto de la presente invención, una solución del compuesto diana o PBS solo se administró a un ojo de cada rata medio de la administración de gotas oculares. Treinta minutos, dos horas, y 10 horas después de la administración, se recogieron 1 µL a 10 µL de lágrimas con una pipeta, y las ratas se sometieron a eutanasia. Se extirpó el globo ocular de cada rata y después se recogió la córnea.

El contenido de cada compuesto en lágrimas y/o en la córnea se midió por LC-MS. Se añadió HCl 0,1 M a la muestra, y a continuación, la mezcla obtenida se agitó en el caso de lágrimas, o se homogeneizó en el caso de córnea. Después de esto, se añadió acetato de etilo al resultado, y después la mezcla obtenida se agitó completamente para centrifugación. Después se recogió una capa superior. Se añadió más acetato de etilo a la capa inferior, y las operaciones descritas anteriormente se llevaron a cabo repetidas veces sobre la mezcla obtenida. Se reunieron las capas superiores de tres veces de operaciones, y una muestra obtenida secando la capa reunida con gas nitrógeno se usó después en la medición por LC-MS.

Aplicabilidad industrial

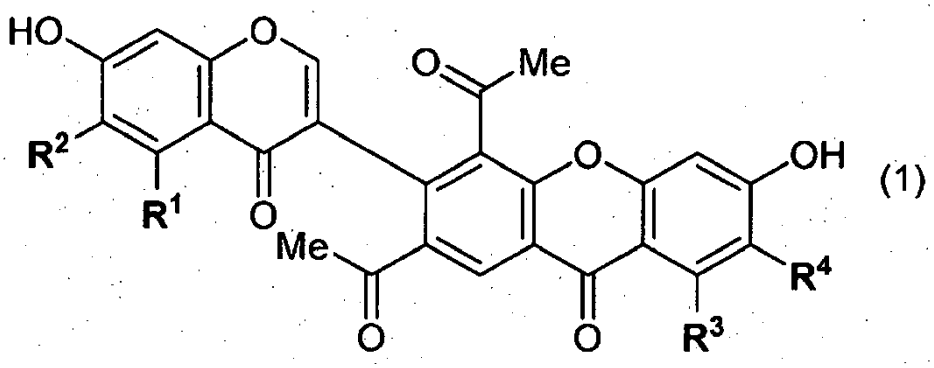
El compuesto de xantona que tiene actividad inhibidora de semaforina 3A de la presente invención es eficaz como agente terapéutico o preventivo para la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal. Expresamente, el presente compuesto de xantona se puede usar eficazmente como agente terapéutico o preventivo para la neuropatía sensorial causada por daño del nervio sensorial corneal debido a una enfermedad corneal tal como queratitis, leucoma, infección corneal, degeneración corneal, distrofia corneal, distrofia estromal corneal queratopatía bullosa, queratocono, descompensación corneal, úlcera corneal, queratopatía neuroparalítica, queratopatía diabética, quemaduras químicas de la córnea, o quemaduras térmicas de la córnea; o para la neuropatía sensorial causada por daño del nervio sensorial corneal debido a cirugía corneal tal como queratoplastia, cirugía correctora de la miopía, y cirugía corneal que tiene como objetivo la córnea y es requerida para el tratamiento de enfermedad ocular o lesión corneal. Además, el compuesto de xantona que tiene actividad inhibidora de semaforina 3A de la presente invención también se puede usar eficazmente como promotor para la regeneración del nervio sensorial corneal.

Además, el compuesto de xantona usado en la presente invención es químicamente estable en extremo en una solución acuosa tal como un tampón fosfato. Así, cuando el presente compuesto de xantona se administra en forma

de gota oftálmica, es estable en las lágrimas o en la córnea. Por consiguiente, el presente compuesto de xantona es extremadamente preferible como agente terapéutico o preventivo para la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal, y también como promotor para la regeneración del nervio sensorial corneal.

REIVINDICACIONES

1. Un agente que comprende, como ingrediente activo, un compuesto representado por la fórmula (1) siguiente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(1)

en donde R^1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo carboxilo; R^2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo; R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo carboxilo; y R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo;

para uso en un método que es:

(i) un método para el tratamiento o la prevención de la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal; o

(ii) un método para promover la regeneración del nervio sensorial corneal.

en donde el compuesto representado por la fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra por vía parenteral tópicamente en los ojos.

2. El agente para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el nervio sensorial corneal ha sido desconectado o dañado en la neuropatía sensorial.

3. El agente para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el método es un método para promover la regeneración del nervio sensorial corneal y un método para el tratamiento o la prevención de la neuropatía sensorial causada por enfermedad corneal o cirugía corneal.

4. El agente para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde, en la fórmula (1), al menos uno de R^2 y R^4 representa un grupo hidroxilo.

5. El agente para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde, en la fórmula (1), R^2 y R^4 representan cada uno de ellos un grupo hidroxilo.

6. El agente para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde, en la fórmula (1), al menos uno de R^1 y R^3 representa un grupo carboxilo.

7. El agente para uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde, en la fórmula (1), R^3 representa un grupo carboxilo.

8. El agente para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde, en la fórmula (1), R^1 y R^3 representan cada uno de ellos un grupo carboxilo, y R^2 y R^4 representan cada uno de ellos un grupo hidroxilo.

9. El agente para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la neuropatía sensorial es causada por enfermedad corneal y la enfermedad corneal es queratitis, leucoma, infección corneal, degeneración corneal, distrofia corneal, distrofia estromal corneal, queratopatía bullosa, queratocono, descompensación corneal, úlcera corneal, queratopatía neuroparalítica, queratopatía diabética, quemaduras químicas de la córnea, o quemaduras térmicas de la córnea.

10. El agente para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la neuropatía sensorial es causada por cirugía corneal y la cirugía corneal es queratoplastia.

11. El agente para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la neuropatía sensorial es causada por cirugía corneal y la cirugía corneal es cirugía correctora de la miopía.

12. El agente para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la neuropatía sensorial es causada por cirugía corneal y la cirugía corneal tiene como objetivo la córnea y es requerida para el tratamiento de enfermedad ocular o lesión corneal.

13. El agente para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde la neuropatía sensorial causada por daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal es falta de percepción.

14. El agente para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde la neuropatía sensorial causada por daño del nervio sensorial corneal debido a enfermedad corneal o cirugía corneal es ojo seco.

15. El agente para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, que está en forma de una preparación oftálmica.

FIG.1

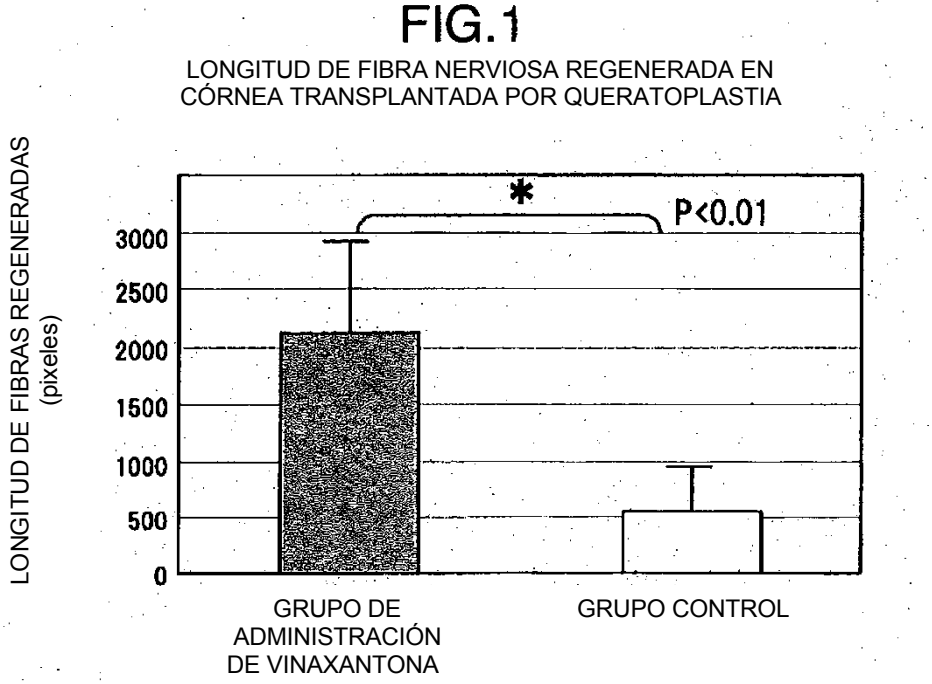

LONGITUD DE FIBRA NERVIOSA REGENERADA EN CÓRNEA TRANSPLANTADA POR QUERATOPLASTIA
LONGITUD DE FIBRAS REGENERADAS (pixeles)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
*
P<0.01
GRUPO DE ADMINISTRACIÓN DE VINAXANTONA
GRUPO CONTROL

FIG.2

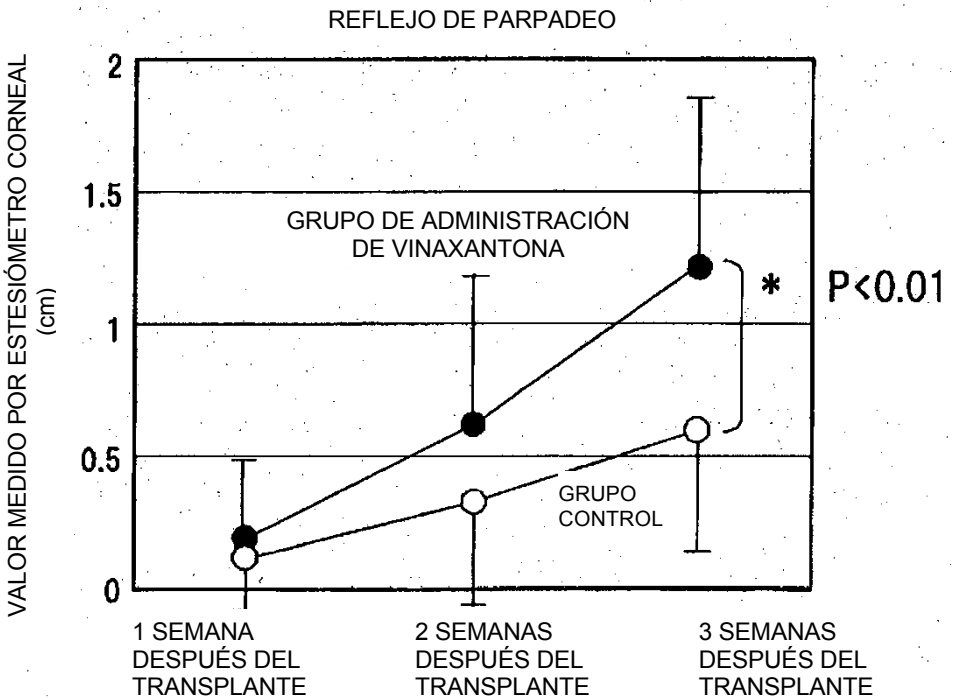

REFLEJO DE PARPADEO
VALOR MEDIDO POR ESTESIÓMETRO CORNEAL (cm)
2
1.5
1
0.5
0
GRUPO DE ADMINISTRACIÓN DE VINAXANTONA
GRUPO CONTROL
*
P<0.01
1 SEMANA DESPUÉS DEL TRANSPLANTE
2 SEMANAS DESPUÉS DEL TRANSPLANTE
3 SEMANAS DESPUÉS DEL TRANSPLANTE

FIG.3

LONGITUDES DE VASOS SANGUÍNEOS RECIÉN FORMADOS EN INJERTO DE CÓRNEA

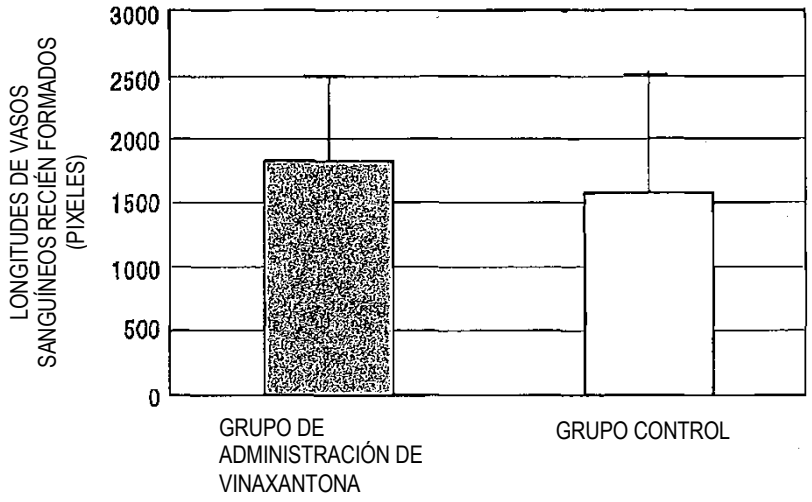


FIG.4

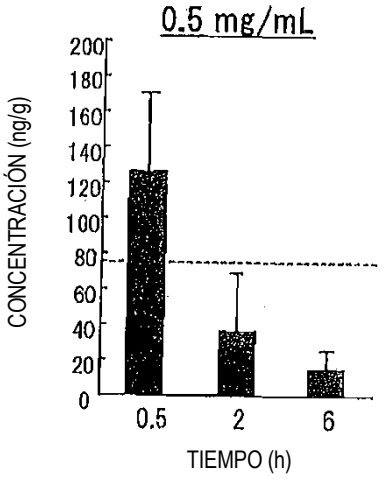


FIG.5

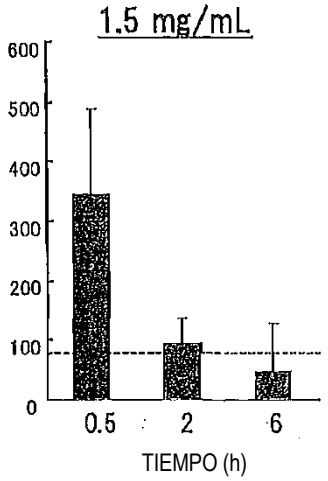

1.5 mg/mL
600
500
400
300
200
100
0
0.5
2
6
TIEMPO (h)

FIG.6

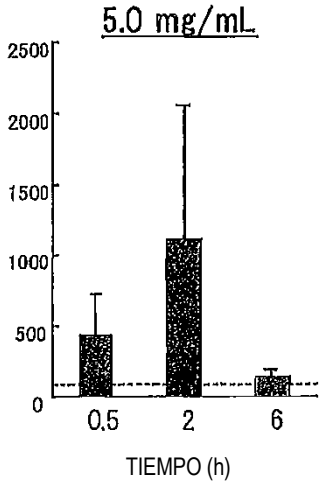

5.0 mg/mL
2500
2000
1500
1000
500
0
0.5
2
6
TIEMPO (h)

FIG.7

ESTABILIDAD EN PBS

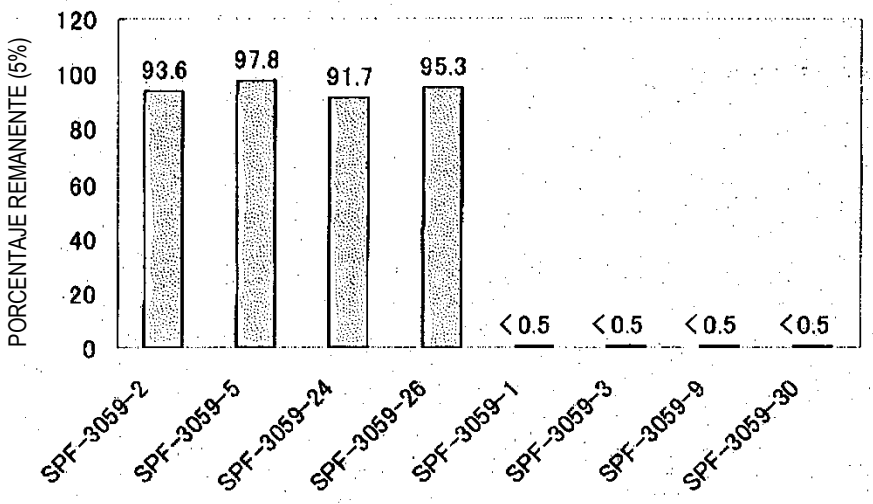
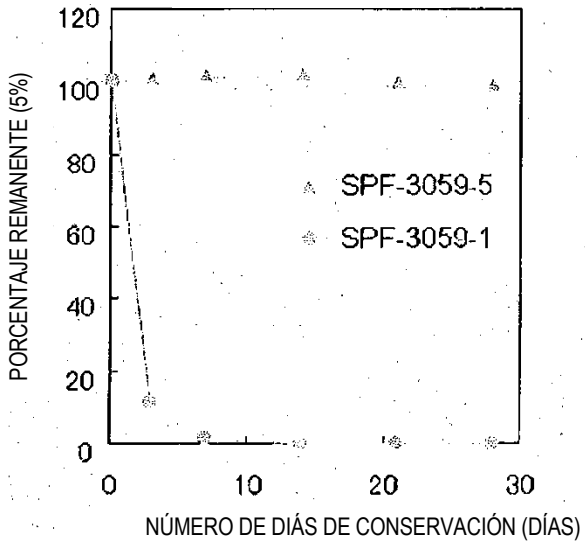


FIG.8

ESTABILIDAD EN PBS