

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 205**

51 Int. Cl.:

A61K 9/06 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 31/737 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.07.2015 PCT/JP2015/069996**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.01.2016 WO16009982**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.07.2015 E 15822565 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.08.2018 EP 3150211**

54 Título: **Agente terapéutico para trastornos queratoconjuntivos**

30 Prioridad:

14.07.2014 JP 2014144555

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

31.10.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**KANEKO, SHINICHIRO;
SASAOKA, MASAOKI;
NAGANO, TAKASHI y
SHIRAE, SATOSHI**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 688 205 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Agente terapéutico para trastornos queratoconjuntivos

Campo técnico

La presente invención se refiere a sacran para uso en el tratamiento o profilaxis de un trastorno queratoconjuntivo.

5 Antecedentes de la técnica

10 Sacran es conocido como un polisacárido derivado de *Aphanothece sacrum*. Como aplicaciones de sacran, se han previsto lentes de polarización como un gel de cristal líquido híbrido de polisacárido-ion metálico, agentes de captura de fotos, agentes de dispersión de fotos, sensores de flujo, juguetes, actuadores y adhesivos, y se ha informado de una acción anti-oxidación, una actividad antialérgica y una propiedad antibacteriana con respecto a *Aphanothece sacrum*, por lo tanto, se han previsto aplicaciones tales como agentes antivirales, agentes anticáncer, agentes de promoción de la salud para uso en alimentos, espesantes y estabilizantes para alimentos y similares (por ejemplo, PTL 1).

Se ha propuesto como una aplicación de sacran un vehículo de liberación sostenida tipo gel y un sistema de administración de fármacos que utiliza el vehículo para liberar el fármaco (por ejemplo, PTL 2).

15 Se ha sugerido que sacran tiene numerosas aplicaciones posibles, y entre ellas, es deseable buscar nuevas aplicaciones farmacológicas.

20 El documento WO 2009/113435 describe dos derivados de azúcar obtenidos del alga *Aphanothece sacrum* y el uso de estos derivados de azúcar en el campo cosmético, en alimentos, como modificadores del suelo, como absorbentes de agua para productos sanitarios, etc. También se describe su uso farmacéutico para protección de la mucosa gástrica, como agentes anticáncer, agentes anticoagulantes, etc. La lista de aplicaciones médicas incluye su uso como gotas oftálmicas.

Documento de patente 1: Publicación internacional PCT No. WO2008/062574

Documento de patente 2: Solicitud de patente japonesa no examinada, publicación n.º 2011-68606

Descripción de la invención

25 Problemas a resolver por la invención

Es el objetivo de la presente invención, teniendo en cuenta las circunstancias mencionadas anteriormente, proporcionar sacran para uso en el tratamiento o profilaxis de un trastorno queratoconjuntivo.

Medios para resolver los problemas

30 Los presentes inventores han descubierto que sacran produce un excelente efecto de mejora para los trastornos de la córnea en un ensayo de efectos terapéuticos en ojo seco y otros trastornos queratoconjuntivos, y han completado la presente invención.

Específicamente, la presente invención proporciona lo siguiente.

1. Sacran para uso en el tratamiento o profilaxis de un trastorno queratoconjuntivo.
- 35 2. Sacran para uso según el punto 1, en donde el trastorno queratoconjuntivo es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en queratitis, conjuntivitis y queratoconjuntivitis.
3. Sacran para uso según el punto 1, en donde el trastorno queratoconjuntivo es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en ojo seco, úlcera corneal, erosión corneal, queratopatía punteada superficial, defecto del epitelio corneal, defecto epitelial conjuntival, trastorno del epitelio conjuntivo, queratoconjuntivitis seca, queratoconjuntivitis límbica superior y queratitis filamentosa.
- 40 4. Sacran para uso según cualquiera de los puntos 1 a 3, que se encuentra en la forma farmacéutica de una solución oftálmica o una pomada oftálmica.

Efectos de la invención

45 Según la presente invención, debido a que comprende sacran, se puede proporcionar un agente terapéutico y un agente profiláctico para un trastorno queratoconjuntivo que tiene excelentes propiedades de almacenamiento de agua y de suministro de agua cuando se administra al ojo. Específicamente, se realizó un ensayo de efectos terapéuticos de trastornos de la córnea, y el sacran en la presente invención produce un excelente efecto activador terapéutico en un modelo de trastorno corneal, y por lo tanto, funciona eficazmente como agente terapéutico y agente profiláctico para la queratitis tal como úlcera corneal, erosión corneal, queratopatía punteada superficial y

defecto del epitelio corneal; conjuntivitis tal como el defecto epitelial conjuntival y el trastorno del epitelio conjuntivo; y queratoconjuntivitis tal como queratoconjuntivitis seca (ojo seco), queratoconjuntivitis límbica superior y queratitis filamentosa.

Breve descripción de los dibujos

- 5 La Figura 1 es un dibujo relativo a los criterios de determinación del ensayo de efectos terapéuticos de los trastornos de la córnea y muestra la división de la córnea y la puntuación.

Modo preferido para realizar la invención

A continuación se explicará una realización de la presente invención.

- 10 El agente terapéutico y el agente profiláctico para un trastorno queratoconjuntivo de la presente invención es sacran. Sacran es un tipo de polisacárido sulfatado, tiene un peso molecular de 2.000.000 o más, y el Número de Registro CAS es 1039552-36-7. Sacran, específicamente, tiene una estructura repetida de una unidad de cadena de azúcar donde un constituyente de azúcar que tiene una estructura de hexosa y un constituyente de azúcar que tiene una estructura de pentosa se conjugan juntos en una cadena lineal o en una cadena ramificada a través de un enlace α -glucosídico o un enlace β -glucosídico, la unidad de cadena de azúcar contiene un azúcar sulfatado lactado como el
15 constituyente de azúcar y, en la unidad de cadena de azúcar, 2,7 o más grupos hidroxilo por cada 100 grupos hidroxilo están sulfatados o los elementos de azufre ocupan 1,5 % en peso o más de todos los elementos.

Es sabido que el sacran se obtiene protonando un polisacárido extraído de *Aphanothece sacrum*, que es una especie endémica en Japón, y realizando una hidrólisis parcial sobre el mismo (por ejemplo, PTL 1).

El sacran, que se puede usar en la presente invención, no se limita al sacran derivado de *Aphanothece sacrum*.

- 20 En la presente invención, los trastornos queratoconjuntivos indican un estado en el que la córnea y la conjuntiva han recibido daños debido a diversos factores. Los trastornos queratoconjuntivos son causados por una reducción en la glándula lagrimal debida, por ejemplo, al ojo seco (queratoconjuntivitis seca), y son causados por lesiones, enfermedades autoinmunes, toxicidad de fármacos y similares.

- 25 Los trastornos queratoconjuntivos, desde el punto de vista de los síntomas, se clasifican de manera aproximada en queratitis tal como úlcera corneal, erosión corneal, queratopatía punteada superficial y defecto del epitelio corneal; conjuntivitis tal como defecto epitelial conjuntival y trastorno del epitelio conjuntivo. Los trastornos queratoconjuntivos, desde el punto de vista de la causa, el sitio de inicio y los síntomas, incluyen queratoconjuntivitis tal como queratoconjuntivitis seca, queratoconjuntivitis límbica superior y queratitis filamentosa. Según la presente invención se puede utilizar sacran en todo tipo de trastornos queratoconjuntivos, y entre ellos, es preferible la
30 queratoconjuntivitis seca. La queratoconjuntivitis seca se conoce también como ojo seco.

El sacran para uso en el tratamiento o profilaxis de un trastorno queratoconjuntivo de la presente invención se puede administrar por vía parenteral. Una solución oftálmica, una pomada oftálmica, inyecciones y similares se pueden proporcionar como formas farmacéuticas, y entre ellas, se prefieren una solución oftálmica y una pomada oftálmica, y es más preferida la solución oftálmica.

- 35 Estas formas farmacéuticas se pueden preparar usando cualquiera de las técnicas generalmente utilizadas.

- Por ejemplo, la solución oftálmica se puede preparar utilizando un agente de tonicidad tal como cloruro de sodio y glicerina concentrada; un agente tampón tal como fosfato de sodio y acetato de sodio; un tensioactivo tal como monoolato de sorbitán polioxietilenado, estearato de polioxilo 40 y aceite de ricino hidrogenado polioxietilenado; un agente estabilizante tal como citrato de sodio y edetato de sodio; un conservante tal como cloruro de benzalconio y parabeno; y similares según sea necesario. El pH puede estar dentro de un intervalo aceptable para los
40 medicamentos oftálmicos, y preferiblemente está en el intervalo de 4 a 8.

La pomada oftálmica se puede preparar con una base utilizada habitualmente tal como vaselina blanca o parafina líquida.

- 45 El sacran para uso en el tratamiento o profilaxis de un trastorno queratoconjuntivo de la presente invención es útil como agente profiláctico, pero preferiblemente es un agente terapéutico.

- En el sacran para uso en el tratamiento o profilaxis de un trastorno queratoconjuntivo de la presente invención, específicamente, la dosis de sacran se puede seleccionar apropiadamente dependiendo de los síntomas, la edad, la forma farmacéutica, y similares, pero en una solución oftálmica, el sacran se puede instilar a una concentración de 0,00001 a 1 % (p/v), preferiblemente 0,0001 a 1 % (p/v) una a varias veces al día, y específicamente, una a seis
50 veces al día, y es preferible dos o tres veces al día.

Ejemplos

El ejemplo de preparación de sacran, los ejemplos de formulación y los resultados del ensayo farmacológico se

muestran a continuación, pero estos ejemplos se proporcionan con el propósito de una mejor comprensión de la presente invención, y no limitan el alcance de la presente invención.

Ejemplo de preparación de sacran

5 Se eliminó el pigmento soluble en agua congelando una cantidad apropiada de *Aphanothece sacrum* y agua, lavando después de fundir, y a continuación, se separó el pigmento liposoluble mientras se agitaba durante la noche en etanol. Después de separar el etanol del *Aphanothece sacrum* del que se habían eliminado estos pigmentos, se calentó la solución en una solución acuosa de hidróxido de sodio 0,4-0,6 N a 40 °C, y se disolvió mientras se agitaba durante aproximadamente cinco horas. Una solución acuosa del derivado de azúcar extraído por la operación se neutralizó con ácido clorhídrico y se desalinizó sumergiéndola en alcohol isopropílico en 60 a 80 %. Después de la desalinización, se vertió el concentrado sobre isopropanol al 100 % con agitación y precipitó un sacran tipo gel, y el sacran tipo gel se secó con aire caliente a 85 °C o más durante seis horas para obtener sacran (el presente compuesto). derivado de *Aphanothece sacrum*, que es un derivado de azúcar fibroso.

Ejemplos de formulación

Los ejemplos de formulaciones típicas que utilizan sacran (el presente compuesto) se muestran a continuación.

15 Ejemplo de formulación 1: Solución oftálmica

En 100 ml

| | |
|-------------------------|--------------------|
| Presente compuesto | 200 mg |
| Cloruro de sodio | 900 mg |
| Agua purificada estéril | Cantidad apropiada |

20 Ejemplo de formulación 2: Solución oftálmica

En 100 ml

| | |
|-----------------------------|--------------------|
| Presente compuesto | 200 mg |
| Cloruro de sodio | 800 mg |
| Hidrogenofosfato de disodio | 100 mg |
| Dihidrogenofosfato de sodio | Cantidad apropiada |
| Agua purificada estéril | Cantidad apropiada |

Ejemplo de formulación 3: Pomada oftálmica

En 100 g

| | |
|--------------------|--------------------|
| Presente compuesto | 0,2 g |
| Parafina líquida | 10,0 g |
| Vaselina blanca | Cantidad apropiada |

Ensayo farmacológico

1. Ensayo de los efectos terapéuticos de trastornos de la córnea

35 Utilizando una rata SD macho, se produjo un modelo de trastorno corneal según el método de Fujihara, *et al.* (Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 42 (1): 96-100 (2001)). Después de producir el modelo de trastorno corneal, se puntuó la extensión del trastorno corneal según el método de Murakami, *et al.* (Atarashii Ganka (New Ophthalmology) 21 (1): 87-90. (2004)).

Método de ensayo

40 Se anestesió sistemáticamente una rata SD macho mediante una administración intraperitoneal de 2,5 ml/kg de Somnopentilo inyectable diluido cinco veces con una solución salina fisiológica, y se mantuvo en estado anestesiado mediante inhalación de Escain (al 1,5 %). A continuación, se hizo una incisión en ambos lados de la piel bucal, se separó la glándula lagrimal exorbital y se suturó la piel con un clip de sutura Michel. Después, se indujo el daño de la córnea durante ocho semanas. Además, se prepararon animales normales en los que no se realizó la separación de la glándula lagrimal.

A continuación, se instilaron 5 µL de solución tampón de fosfato (PBS) seis veces al día durante cuatro semanas en ambos ojos (ojo normal) en los animales normales, y se instilaron 5 µL de PBS (control), o una solución en PBS del presente compuesto al 0,006 % o al 0,2 % seis veces al día durante cuatro semanas en ambos ojos en el modelo del trastorno corneal.

5 La córnea se tiñó con fluoresceína antes y cuatro semanas después del inicio de la instilación. Las partes superior, media e inferior de la córnea se evaluaron en cuanto a la extensión de la tinción con fluoresceína según los siguientes criterios, y la extensión del daño corneal se calculó a partir del valor medio de las puntuaciones totales de las partes respectivas mencionadas antes.

10 Los ojos normales se ensayaron de la misma manera que se ha indicado antes y se buscó el valor medio de las puntuaciones totales de las partes respectivas mencionadas antes.

Criterios de determinación

1) Se dividió la córnea en partes superior, media e inferior como se muestra en la Figura 1, y se dio una puntuación de 0 a 3 en base a los criterios de la Tabla 1. Se proporcionó 0,5 como un valor intermedio.

15 2) Se sumaron las puntuaciones de las tres regiones y se calculó una puntuación por defecto (0-9) para cada ojo observado.

Tabla 1

| Puntuación | Criterios de determinación |
|------------|--|
| 0 | Sin tinción punteada |
| 1 | Tinción dispersa (Tinción con fluoresceína de punteados separados) |
| 2 | Tinción intermedia (Intermedia entre 1 y 3) |
| 3 | Tinción fuerte (Tinción con fluoresceína de punteados casi contiguos) |

Resultados

20 La relación de mejora debida a la instilación del presente compuesto calculada sobre la base del valor medio de las puntuaciones totales de las partes respectivas mencionadas antes en el grupo de control como un valor estándar (relación de mejora: 0 %) según la siguiente fórmula de cálculo se muestra en la Tabla 2. Obsérvese que, el valor medio de las puntuaciones es la media de 8 ojos (4 animales).

$$\text{Relación de mejora (\%)} = \frac{\{(\text{control}) - (\text{presente compuesto})\}}{\text{grado de daño}} \times 100$$

$$\text{Grado de daño} = \{(\text{control}) - (\text{ojo normal})\}$$

25 Tabla 2

| Grupo | Cuatro semanas después del inicio de la instilación ocular | |
|--------------------------------|--|------------------------|
| | Valor medio de las puntuaciones totales | Relación de mejora (%) |
| Ojo normal | 2,7 | |
| Control | 5,6 | 0 |
| 0,006 % del presente compuesto | 4,4 | 41 |
| 0,2 % del presente compuesto | 2,7 | 100 |

Discusión

Como es evidente a partir de los resultados del ensayo farmacológico en el que se utilizó la rata mencionada antes, el presente compuesto mejora notablemente los trastornos de la córnea.

2. Ensayo de los efectos terapéuticos de trastornos de la córnea (Examen de la frecuencia de instilación)

5 Los resultados del ensayo mencionado antes se examinaron por el mismo método de ensayo con respecto a la influencia de la frecuencia de instilación de una solución en PBS del presente compuesto al 0,2 % sobre el resultado de la mejora en los trastornos de la córnea.

Método de ensayo

10 El daño corneal se indujo durante ocho semanas realizando la misma operación que en el ensayo mencionado antes para las ratas SD machos. Además, se prepararon animales normales en los que no se realizó la separación de las glándulas lagrimales.

15 A continuación, se instilaron 5 µL de PBS (ojo normal) seis veces al día durante cuatro semanas en ambos ojos en el animal normal, se instilaron 5 µL de PBS (control) seis veces al día durante cuatro semanas en ambos ojos y se instilaron 5 µL de una solución en PBS del presente compuesto al 0,2 % dos o seis veces al día durante cuatro semanas en ambos ojos en el modelo de trastorno corneal.

Se tiñó la córnea con fluoresceína antes de, y una, dos y cuatro semanas después del inicio de la instilación, y se calculó la extensión del trastorno corneal por los mismos métodos que en el ensayo mencionado antes.

El ojo normal se ensayó de la misma manera que se ha indicado anteriormente y se buscó el valor medio de las puntuaciones totales de las partes respectivas mencionadas antes.

20 Resultados

La relación de mejora debida a la instilación del presente compuesto calculada de la misma manera que el efecto de mejora en el ensayo mencionado antes se muestra en la Tabla 3. Obsérvese que el valor medio de las puntuaciones es la media de 8 ojos (4 animales).

Tabla 3

| Grupo | Una semana después del inicio de la instilación ocular | | Dos semanas después del inicio de la instilación ocular | | Cuatro semanas después del inicio de la instilación ocular | |
|--------------------------------------|--|------------------------|---|------------------------|--|------------------------|
| | Valor medio de las puntuaciones totales | Relación de mejora (%) | Valor medio de las puntuaciones totales | Relación de mejora (%) | Valor medio de las puntuaciones totales | Relación de mejora (%) |
| Ojo normal | 2,4 | / | 3,5 | / | 3,6 | / |
| Control | 5,8 | 0 | 5,2 | 0 | 6,0 | 0 |
| Instilación ocular dos veces al día | 4,0 | 53 | 3,5 | 100 | 3,8 | 92 |
| Instilación ocular seis veces al día | 3,4 | 71 | 3,3 | 112 | 3,0 | 125 |

25

Discusión

30 Como es evidente a partir de los resultados del ensayo farmacológico en el que se utilizó la rata mencionada antes, el presente compuesto mejora notablemente los trastornos corneales, y se observó el efecto de mejora incluso con instilación ocular dos veces al día, pero específicamente, el efecto de mejora se pudo observar desde una etapa temprana cuando la instilación ocular se realizó seis veces al día.

3. Ensayo de evaluación de la acción de mejora del trastorno del epitelio conjuntivo

Los resultados del ensayo mencionado antes se examinaron con respecto al efecto de mejora sobre el trastorno del epitelio conjuntivo (reducción de células conjuntivales calciformes) de una solución en PBS del presente compuesto al 0,2 %.

35

Método de ensayo

El daño corneal fue inducido durante ocho semanas realizando la misma operación que en el ensayo mencionado antes para las ratas SD machos. Además, se prepararon animales normales en los que no se realizó la eliminación de las glándulas lagrimales.

5 A continuación, se instilaron 5 µL de PBS (ojo normal) seis veces al día durante cuatro semanas en ambos ojos en el animal normal, se instilaron 5 µL de PBS (control) seis veces al día durante cuatro semanas en ambos ojos y se instilaron 5 µL de una solución en PBS del presente compuesto al 0,2 % dos o seis veces al día durante cuatro semanas en ambos ojos en el modelo de trastorno del epitelio conjuntivo.

10 Se extirparon los párpados cuatro semanas después del inicio de la instilación ocular y se realizó un examen histopatológico. Después los párpados extirpados se sumergieron y se fijaron en formalina tamponada neutra al 10 % y se sustituyó por parafina, los lados de la oreja se hicieron como una superficie incluida en parafina para preparar un bloque, y se realizó un corte fino para producir una muestra para reacción PAS.

Utilizando una lente objetivo de 40X, se contó el número de todas las células conjuntivas caliciformes observadas en las muestras para los respectivos párpados superior e inferior.

15 Resultados

El efecto de aumentar las células conjuntivas caliciformes por la instilación continua del presente compuesto durante cuatro semanas se muestra en la Tabla 4. Obsérvese que el valor medio del número de células caliciformes es la media de 7-8 ojos (4 animales).

Tabla 4

| Grupo | Número | Número de células caliciformes (Valor medio) |
|--|--------|--|
| Ojo normal | 8 ojos | 583 |
| Control | 8 ojos | 446 |
| 0,2 % del presente compuesto Instilación ocular dos veces al día | 7 ojos | 551 |
| 0,2 % del presente compuesto Instilación ocular seis veces al día | 7 ojos | 514 |

20

Discusión

A partir de los resultados del ensayo histopatológico mencionado antes, el presente compuesto tiene un efecto de mejorar los trastornos del epitelio conjuntivo causados por la eliminación de las glándulas lagrimales, y este efecto de mejora se observó no solo con instilación ocular seis veces al día, sino también con instilación ocular dos veces al día.

25

REIVINDICACIONES

1. Sacran para uso en el tratamiento o profilaxis de un trastorno queratoconjuntivo.
2. Sacran para uso según la reivindicación 1, en donde el trastorno queratoconjuntivo es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en queratitis, conjuntivitis y queratoconjuntivitis.
- 5 3. Sacran para uso según la reivindicación 1, en donde el trastorno queratoconjuntivo es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en ojo seco, úlcera corneal, erosión corneal, queratopatía punteada superficial, defecto del epitelio corneal, defecto epitelial conjuntival, trastorno del epitelio conjuntivo, queratoconjuntivitis seca, queratoconjuntivitis límbica superior y queratitis filamentosa.
- 10 4. Sacran para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, el cual está en la forma farmacéutica de una solución oftálmica o una pomada oftálmica.

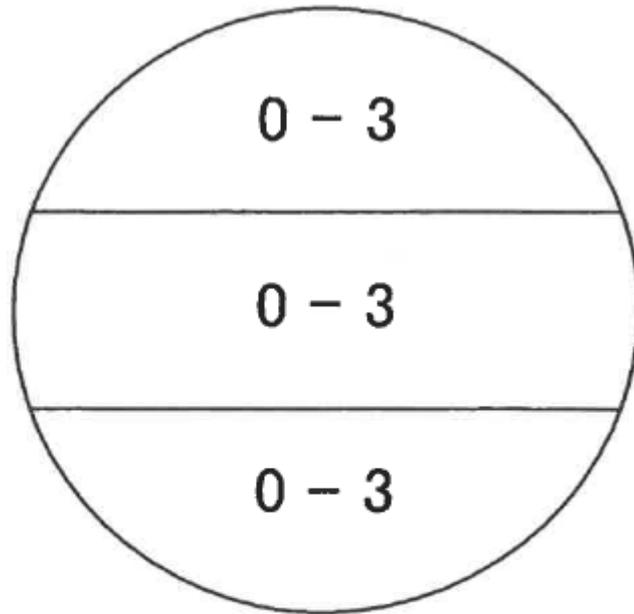


Fig. 1