



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 311 986**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/366 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 27/06 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **05738648 .4**

(96) Fecha de presentación : **25.04.2005**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1740164**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **10.01.2007**

(54) Título: **Estatinas para el tratamiento de la hipertensión ocular y del glaucoma.**

(30) Prioridad: **26.04.2004 US 565469 P**

(73) Titular/es: **Alcon, Inc.
Bösch 69, P.O. Box 62
6331 Hünenberg, CH**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.02.2009

(72) Inventor/es: **Hellberg, Mark, R.;
Fleenor, Debra, L.;
Shepard, Allan y
Pang, Iok-Hou**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.02.2009

(74) Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

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

Estatinas para el tratamiento de la hipertensión ocular y del glaucoma.

5 Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere al glaucoma y al control o a la reducción de la presión intraocular en pacientes. Más específicamente, la presente invención se refiere a la utilización de composiciones farmacéuticas que resultan útiles en el tratamiento del glaucoma y en el control o la reducción de la presión intraocular.

10 La neuropatía óptica glaucomatosa (glaucoma) es una enfermedad caracterizada porque presenta pérdida permanente de la función visual debida al daño irreversible en el nervio óptico. Varios tipos distintos morfológica o funcionalmente de glaucoma se caracterizan por lo general por la presión intraocular (IOP) elevada, que se considera que está etiológicamente relacionada con el curso patológico de la enfermedad. La hipertensión ocular es una enfermedad en la
15 que la IOP es elevada, pero no ha aparecido ninguna pérdida aparente de función visual; dichos pacientes se considera que están en situación de riesgo elevado de desarrollo eventual de pérdida de visión asociada al glaucoma. Algunos pacientes con pérdida de campo glaucomatoso presentan IOP relativamente baja. Estos pacientes con tensión normal o con glaucoma de baja tensión pueden beneficiarse también de los agentes que reducen y controlan la IOP. Si el
20 glaucoma o la hipertensión ocular se detecta al principio y se trata pronto con medicaciones que reducen eficazmente la presión intraocular elevada, la pérdida de función visual o su deterioro progresivo generalmente puede mejorarse. Las terapias farmacéuticas que han demostrado ser eficaces para la reducción de la presión intraocular incluyen tanto agentes que disminuyen la producción de humor acuoso como los agentes que aumentan la facilidad de derrame.

25 La IOP elevada continuamente ha sido asociada al deterioro progresivo de la retina y a la pérdida de función visual. Por consiguiente, la reducción de la IOP puede ser un objetivo para el tratamiento de los pacientes de glaucoma, con el fin de disminuir el potencial para la retinopatía glaucomatosa o la gravedad de la misma. Desgraciadamente, muchos individuos no responden bien cuando se tratan con las terapias de glaucoma existentes. La presente invención se refiere principalmente a la clase de fármacos, que presenta actividad inhibidora de HMG-CoA reductasa. El término "estatina" se ha utilizado con frecuencia para describir un "inhibidor de HMG-CoA reductasa". Las estatinas
30 se han utilizado o evaluado en varios estudios médicos para varios fines. Unos pocos de estos estudios se publican a continuación. Sin embargo, con todos estos estudios, no ha habido reconocimiento de que las estatinas son capaces de ser eficaces en el tratamiento del glaucoma y/o de controlar o reducir la presión intraocular. Las estatinas son una clase de inhibidores de 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, que son conocidos por sus propiedades hipolipídicas clínicas. Las propiedades hipolipídicas son debidas a la capacidad de las estatinas para
35 inhibir la HMG-CoA reductasa, impidiendo la conversión de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA a mevalonato, que es la etapa limitadora de velocidad en la síntesis del colesterol. Sin embargo, las estatinas también ejercen acciones que pueden no estar relacionadas con la inhibición de la biosíntesis del colesterol. Por ejemplo, se ha publicado que las estatinas inhiben la expresión de varias integrinas, al inhibir la producción del anión superóxido, al interferir con la isoprenilación de la proteína Rho y al actuar como secuestradores de radicales libres, entre otros efectos (Wassmann
40 y Nickenig, *Endothelium*, 2003, **10**:23-33; Mason JC, *Clin. Sci. (Lond)* 2003, **105**:251-66). Asimismo, las actividades antiinflamatorias y cardioprotectoras de las estatinas se han descrito (Yoshida M. J. *Atherosclerosis Thromb.* 2003,
45 **10**(3), 140-4; Luo J.D. y Chen A.F. *Curr. Med. Chem.* 2003, **10**(16), 1593-601).

50 Otros ejemplos de estudios en los que se han utilizado estatinas con fines relacionados con la inexistencia de glaucoma se describen con mayor detalle en la solicitud de patente US nº 2003/0065020 que se refiere a la utilización de inhibidores de HMG-CoA reductasa, estatinas, para tratar la degeneración macular o prevenir la degeneración macular. Asimismo, la patente US nº 6.569.461 se refiere a la utilización de una formulación de liberación retardada de determinadas estatinas ácidas con dihidroxi abierto para el tratamiento de la retinopatía diabética. Schmidt *et al.* (*Ophthalmic Res.* 1994, 26, 352-60) publicaron que los pacientes tratados con lovastatina o simvastatina, administrados por vía oral durante por lo menos un año, no presentaban cambios clínicamente significativos en la presión intraocular.

55 Para reducir la IOP se ha descrito también el clofibrato, un miembro de la clase fibrato del agonista del receptor activado por el proliferador de peroxisoma (PPAR) que produce una reducción moderada en LDL colesterol y triglicéridos.

Los documentos WO2005/053683, EP-A-0473337 y US-A-5134124 describen la utilización de las estatinas en el tratamiento del glaucoma.

60 Los presentes inventores, mediante estudios significativos, han descubierto procedimientos para tratar el glaucoma y/o controlar o reducir la presión intraocular mediante la utilización de inhibidores de HMG-CoA reductasa, tales como las estatinas.

Sumario de la presente invención

65 La presente invención proporciona utilizaciones de las estatinas seleccionadas de entre rosuvastatina, pitavastatina, berivastatina, glenvastatina, o un derivado de las mismas, o una combinación de las mismas, en la preparación de un medicamento para el tratamiento del glaucoma en un paciente, para controlar la presión intraocular normal o elevada en un paciente, para conservar la malla trabecular de un paciente, para proteger contra la neurodegeneración ocular

ES 2 311 986 T3

en un paciente y para proteger contra la retinopatía glaucomatosa en un paciente, de acuerdo con las reivindicaciones siguientes.

Otras características y ventajas de la presente invención se expondrán en parte en la descripción siguiente, y en parte resultarán evidentes a partir de la descripción, o pueden aprenderse mediante la puesta en práctica de la presente invención. Los objetivos y otras ventajas de la presente invención serán realizados y alcanzados por medio de los elementos y combinaciones particularmente señalados en la descripción y reivindicaciones adjuntas.

Para conseguir éstas y otras ventajas y según los objetivos de la presente invención, como se materializa y se describe ampliamente en la presente invención, la presente invención se refiere a la utilización de composiciones que contienen por lo menos un inhibidor de HMG-CoA reductasa para el tratamiento del glaucoma y/o la reducción o el control de la IOP normal o elevada, tal como de la IOP asociada al glaucoma con tensión normal y/o a la hipertensión ocular. Las composiciones pueden ser preferentemente composiciones farmacéuticas, por ejemplo, adecuadas para la administración tópica al ojo.

Debe apreciarse que tanto la descripción general siguiente como la descripción detallada siguiente se proporcionan únicamente a título de ejemplo y se pretende que proporcionen una explicación adicional de la presente invención, tal como se reivindica.

20 Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1 a 3 son gráficos que publican los efectos de las estatinas sobre la expresión del gen CTGF basal e inducida por TGFp2 en células de la malla trabecular humanas cultivadas.

La figura 4 es un gráfico de barras que presenta el efecto de estrés oxidativo provocado por H₂O₂ en la viabilidad de la célula HTM-35D. Se incubaron células en presencia o ausencia de agentes de ensayo en medio exento de suero durante 30 min. (37°C, 5% de CO₂), seguido de lavado y sustitución con medio exento de suero durante 2 días. Se evaluó a continuación la viabilidad por absorción del rojo neutro. Las barras representan la media y la SEM de dos experimentos independientes, realizado cada uno por triplicado.

La figura 5 representa gráficos de barras que muestran el efecto de la lovastatina sobre la secreción y viabilidad de la fibronectina de la célula GTM-3. Las células de la malla trabecular humanas transformadas (GTM-3) se incubaron en presencia o ausencia de agentes de ensayo en medio DMEM exento de suero durante 24 h (37°C, 5% de CO₂). Se analizó a continuación el contenido de fibronectina en sobrenadantes celulares por ELISA y en las monocapas celulares se ensayó la viabilidad por absorción del rojo neutro.

Descripción detallada de la presente invención

La presente invención se refiere en parte a un compuesto para su utilización en el tratamiento del glaucoma en un paciente humano o en otros mamíferos. La presente invención se refiere también a la utilización para reducir o controlar la IOP normal o elevada en un paciente humano u otros mamíferos. Las utilizaciones implican la administración de una composición que contiene por lo menos un inhibidor de 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa. En otras palabras, la presente invención se refiere a la utilización de por lo menos una sustancia que presente actividad del inhibidor de HMG-CoA reductasa.

Un grupo de inhibidores de HMG-CoA reductasa que son adecuados para su utilización en la presente invención son conocidos como estatinas. Para los objetivos de la presente invención, las "estatinas" tal como se utiliza en la presente memoria son inhibidores de HMG-CoA. Estos fármacos pueden tener propiedades hipolipídemicas debido a su capacidad para inhibir la HMG-CoA reductasa, impidiendo la conversión de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA en mevalonato, que es la etapa limitadora de la velocidad en la síntesis del colesterol.

Ejemplos de inhibidores de HMG-CoA reductasa incluyen la rosuvastatina, pitavastatina, berivastatina y glenvastatina.

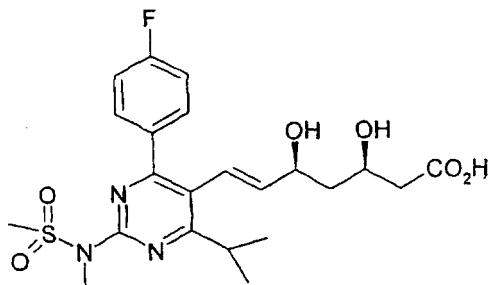
Las denominaciones químicas son las siguientes:

rosuvastatina - (ácido (3R,5S,6E)-7-[4-(4-fluorofenil)-6-(1-metiletil)-2-[metil(metilsulfonil)amino]-5-pirimidinil]-3,5-dihidroxi-6-heptenoico),

pitavastatina - (ácido (3R,5S,6E)-7-[2-ciclopropil-4-(4-fluorofenil)-3-quinolinil]-3,5-dihidroxi-6-heptenoico),

berivastatina - (éster (R*, S*(E)-7-(4-(4-fluorofenil)espiro(2H-1-benzopiran-2,1'-ciclopantan)-3-il)-3,5-dihidroxi-etílico),

glenvastatina - ((4R,6S)-6-[(1E)-2-[4-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-6-fenil-3-piridinil]etenil]tetrahidro-4-hidroxi-2H-piran-2-ona).



15 rosuvastatina - ácido (3R,5S,6E)-7-[4-(4-fluorofenil)-6-(1-metiletil)-2-[metil(metilsulfonil)amino]-5-pirimidinil]-3,5-dihidroxi-6-heptenoico.

Es conocido que los compuestos descritos anteriormente pueden contener uno o más centros quirales. La presente invención contempla todos los enantiómeros, diastereómeros y mezclas de los mismos.

20 Los inhibidores de HMG-CoA reductasa utilizados en la presente invención también incluyen los compuestos que presentan o incluyen el resto de Estructura B descrito anteriormente en combinación con restos aparte de los restos con estructura A mostrados anteriormente.

25 Las sales y solvatos y las formas profármaco farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos anteriormente pueden utilizarse también en los procedimientos de la presente invención. Además, los derivados de los compuestos indicados anteriormente pueden utilizarse también en los procedimientos de la presente invención. Los derivados incluyen: derivados de los ácidos carboxílicos (por ejemplo: sales, ésteres, lactonas, amidas, ácidos hidroxámicos, alcoholes, alcoholes esterificados y alcoholes alquilados (alcóxidos) del ácido carboxílico) y derivados de los alcoholes (por ejemplo: ésteres, carbamatos, lactonas, carbonatos, alcóxidos, acetales, cetales, fosfatos y ésteres de fosfato). Con respecto a los compuestos descritos anteriormente, varios compuestos contienen flúor en uno o más anillos aromáticos, y así en lugar de un flúor, puede utilizarse cualquier otro haluro. Asimismo, en lugar de hidrógeno o grupos alquilo como se indica en los compuestos anteriores, pueden utilizarse diferentes grupos alquilo. Por ejemplo, en lugar de un grupo -OH, podría utilizarse un grupo -O- alquilo. De este modo, pueden utilizarse fácilmente varios derivados en la presente invención basados en las directrices y el conocimiento presentados en la presente memoria, 30 junto con el conocimiento que un experto en la materia tiene en esta área técnica.

35 Los ejemplos anteriores están disponibles en el mercado (por ejemplo, Calbiochem-Novabiochem Corporation, SST Corporation, Aceto Corporation, Tocris Cookson Inc., Sigma, y BIOMOL Research Laboratories, Inc.) o pueden sintetizarse basándose en la bibliografía disponible para los expertos en la materia.

40 La biodisponibilidad oral de las estatinas es baja (es decir, oscilando generalmente entre 5 y 20%) debido a la extensa eliminación pregeneralizada en el hígado y en la mucosa intestinal. Además, la mayoría de las estatinas se unen en gran medida al plasma y se eliminan rápidamente (Klotz U. Arzneim Forsch (Drug Research) 2003, **53**, 605-611). Estos factores limitan significativamente la cantidad de compuesto activo que alcanza los tejidos oculares 45 después de la administración oral.

50 La utilización de la administración ocular tópica es por consiguiente muy preferida en la presente invención. Sin embargo, los presentes inventores han descubierto que aunque determinadas estatinas son capaces de alcanzar los tejidos intraoculares por penetración de la córnea después de la administración ocular tópica (por ejemplo, pravastatina), otras estatinas no penetran fácilmente en la córnea y por consiguiente no son agentes terapéuticos viables en los procedimientos de la presente invención por esta vía de administración (por ejemplo, atorvastatina).

55 La utilización de parámetros de retención de la cromatografía líquida de alta presión en fase inversa tal como el índice de retención (“IR”) ha demostrado utilidad en predecir el reparto de las moléculas en las membranas biológicas y a través de las mismas. (Brent D.A., Sabalka J.J., Minick D.J. y Henry D.W. *Journal of Medicinal Chemistry* 1983, **26**, 1014-1020). Los presentes inventores han descubierto que los valores de IR pueden utilizarse para predecir la capacidad de las estatinas para alcanzar concentraciones terapéuticas en los tejidos intraoculares después de la administración ocular tópica. Específicamente, los inventores han descubierto que las estatinas que presentan un índice IR entre 0,2 y 0,7 pueden administrarse a pacientes por administración ocular tópica. Los índices IR se determinan 60 mediante el procedimiento descrito a continuación.

Determinación de los valores del índice de retención (“IR”)

65 El artículo del ensayo se disuelve en disolvente para proporcionar una solución de 15 a 20 µg/ml. Esta solución y una solución de referencia (éster PGF_{2α} isopropílico al 1% en etanol diluido en 3 ml de disolvente diluyente) se inyectan directamente en una columna de cromatografía de alta presión en fase inversa Microsorb-MV ODS (4,6 mm D.I. × 15 cm de longitud, 5 µm). La fase móvil es una mezcla de tampón de fosfato amónico acuoso pH 3,0/acetonitrilo

ES 2 311 986 T3

(1:1) con un caudal de aproximadamente 1 ml por minuto. El índice de retención (IR) se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$RI = RT1/RT2$$

5

en la que:

10 RT1 = tiempo de retención del artículo de ensayo, y

10 RT2 = tiempo de retención del patrón de éster PGF_{2α} isopropílico.

15 El intervalo del índice IR descrito anteriormente entre 0,2 y 0,7 es aplicable a todas las estatinas descritas en la presente memoria. Sin embargo, el intervalo se basa en la forma de dihidroxiácido libre de los compuestos. Por consiguiente, las estatinas en las que la Estructura B está en configuración de lactona deben convertirse en el correspondiente ácido libre antes de determinar el índice IR.

20 Los compuestos de la presente invención pueden utilizarse para reducir y controlar el IOP incluyendo el IOP asociado al glaucoma con normotensión, a la hipertensión ocular y al glaucoma en los animales de sangre caliente, particularmente los seres humanos. Las composiciones son composiciones farmacéuticas preferentemente formuladas que son preferentemente adecuadas para administración tópica, tal como para los ojos del paciente. La composición puede administrarse de cualquier modo adecuado por técnicas convencionales.

25 Las estatinas pueden ayudar a retardar o contrarrestar la pérdida de celularidad del retículo trabecular (TM) observado en el glaucoma. Aun cuando el mecanismo exacto no resulta conocido, los efectos antioxidantes del radical antioxidante y libre de las estatinas pueden contrarrestar el daño oxidante o estrés relacionado con la edad y/o el glaucoma en el TM. Una disminución en la celularidad se ha señalado anteriormente en el tejido TM de pacientes con glaucoma (Alvarado *et al.*, *Ophthalmology*, 1984, **91**:564-579). Además, se ha descrito que las concentraciones del producto de la peroxidación de lípidos aumentaban por lo menos al doble en el humor acuoso de pacientes con glaucoma, junto con una disminución en la capacidad antioxidante total (Kurysheva *et al.*, *Vestn. Oftalmol.*, 1996, **112**:3-5). El aumento de las concentraciones de radicales libres puede ser perjudicado en una amplia variedad de tejidos, y por consiguiente las estatinas pueden ayudar a retardar o contrarrestar la pérdida de celularidad del TM observada en el glaucoma. El TM es la zona principal de drenaje del humor acuoso (HA) y el HA afectado por el TM puede ser un factor causante para el aumento de la IOP observado con frecuencia en el glaucoma. Al conservar la celularidad del TM por tratamiento con estatinas, el flujo de salida de HA puede mejorarse y la IOP puede disminuir. Por lo tanto, la presente invención se refiere además a un procedimiento para conservar el TM de un paciente administrando una cantidad farmacéuticamente eficaz de una composición que contiene por lo menos un inhibidor de HMG-CoA a un paciente.

40 La presente invención puede prevenir también la acumulación del exceso o de la matriz extracelular inapropiada que puede ocultar el flujo de salida de las vías respiratorias. Una sobreacumulación de materiales de la matriz extracelular en la zona de la TM es también una señal de muchas formas de glaucoma. Dichos aumentos pueden conducir a un aumento de la resistencia al flujo de salida acuoso, elevando de este modo la IOP. El factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) está implicado como factor causante en enfermedades asociadas a la sobreacumulación de ECM, por ejemplo, el esclerodema, las enfermedades fibroproliferantes y la cicatrización. El CTGF puede aumentar la producción de los materiales de la matriz extracelular (ECM) tales como el colágeno I y la fibronectina. La presencia de productos génicos de CTGF se ha detectado tanto en tejidos como en estirpes celulares probadas en TM humana, y el componente fibronectina de ECM es segregado activamente por las células TM humanas cultivadas. Los fármacos de estatina tales como simvastatina, lovastatina y nevastatina (compactina) reducen significativamente la expresión génica del factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) por las células TM humanas cultivadas. Las estatinas también reducen significativamente la secreción de fibronectina por las células TM humanas cultivadas. Por consiguiente, mediante las actividades antioxidantes y de secuestro de radicales libres, también por supresión de la expresión de CTGF y de la secreción de fibronectina, los agentes de estatina representan nuevos medios potenciales para reducir la IOP.

55 Complementando el efecto hipotensor ocular, las estatinas pueden ejercer un efecto neuroprotector. Elevadas concentraciones de mediadores de neurodegeneración, tales como iNOS, TNF α , metalproteinasas de la matriz (MMP) y astrocitos activados, se han observado en la retina glaucomatosa.

60 Un medio de neuroprotección puede ser debido a una reducción de la lesión isquémica en el tejido neuronal. Las estatinas regulan por incremento la óxido nítrico sintasa endotelial, y de este modo pueden ayudar a mantener la circulación sanguínea en los tejidos isquémicos. Se ha demostrado también que las estatinas protegen las neuronas de la retina en un modelo de lesión por isquemia-reperfusión, efecto que fue bloqueado por un inhibidor de la óxido nítrico sintasa.

65 Además, los efectos antioxidant y de secuestro de radicales libres de las estatinas pueden ser protectores frente a la lesión oxidativa/estrés en la retina y en el nervio óptico relacionados con el glaucoma. El glaucoma produce la muerte de la célula del ganglio de la retina (RGC). El/los mecanismo(s) molecular(es) exacto(s) no está(n) claro(s). Sin embargo, existen tres hipótesis populares: (1) la anomalía vascular de la retina que conduce a la isquemia (Flam-

mer *et al.*, *Prog. Retin Eye Res.*, 2002, **21**:359-393), (2) la toxicidad del glutamato (Dreyer *et al.*, *Arch. Ophthalmol.*, 1996, **114**:299-305) y (3) la retirada de los factores neurótrofos (Quigley *et al.*, *Arch. Ophthalmol.*, 1981, **99**:635-649; Quigley *et al.*, *Arch. Ophthalmol.*, 1982, **100**:135-146; Quigley *et al.*, *Am. J. Ophthalmol.*, 1983, **95**:674-691). Todos estos mecanismos propuestos pueden conducir a una toxicidad oxidante para las RGC en el glaucoma y contribuir a su muerte. Por ejemplo, cantidades excesivas de radicales libres y especies de oxígeno reactivas pueden ser generadas por isquemia, que reduce la producción de ATP, origina disfunción mitocondrial y aumenta los radicales libres. La toxicidad del glutamato aumenta la concentración de calcio intracelular, activa las calpaínas y la NO sintasa y produce radicales libres. La retirada de los factores neurótrofos ha demostrado también que origina la lesión oxidativa (Greenlund *et al.*, *Neuron*, 1995, **14**:303-315). Basándose en esta información, los antioxidantes, tales como las estatinas, son útiles como neuroprotectores en pacientes con glaucoma. La presente invención se refiere además a un procedimiento para proteger contra la retinopatía glaucomatosa de un paciente administrando una cantidad farmacéuticamente eficaz de una composición que contiene por lo menos un inhibidor de HMG-CoA reductasa al paciente.

Las composiciones utilizadas en la presente invención pueden ser varios tipos de composiciones farmacéuticas, tales como formulaciones oftálmicas para administrar a los ojos (por ejemplo, por vía tópica, intracameral o mediante un implante). Las composiciones son preferentemente formulaciones oftálmicas tópicas para administrar a los ojos. Las composiciones pueden incluir conservantes, potenciadores de viscosidad, potenciadores de penetración, tampones oftalmológicamente aceptables, cloruro sódico y agua para formar una suspensión o solución acuosa oftálmica estéril. Las formulaciones de la solución oftálmica pueden prepararse disolviendo el ingrediente activo en un tampón isotónico acuoso fisiológicamente aceptable. Además, la solución oftálmica puede incluir un tensioactivo oftalmológicamente aceptable para ayudar a disolver el ingrediente activo. Además, la solución oftálmica puede contener un agente para aumentar la viscosidad, tal como hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetylcelulosa, metilcelulosa, polividona, o similares, para mejorar la retención de la formulación en el saco conjuntivo. Pueden utilizarse agentes gelificantes, incluyendo, pero sin limitarse a, las gomas gellan y xantana. Con el fin de preparar formulaciones estériles de pomada oftálmica, el ingrediente activo se combina con un conservante en un vehículo apropiado, tal como, aceite mineral, lanolina líquida o vaselina blanca. Pueden prepararse formulaciones estériles de gel oftálmico poniendo en suspensión el ingrediente activo en una base hidrófila preparada a partir de la combinación de, por ejemplo, carbopol-974, o similares, según las formulaciones publicadas para las preparaciones oftálmicas análogas; pueden incorporarse conservantes y agentes de tonicidad.

Las composiciones utilizadas en la presente invención se formulan preferentemente como suspensiones o soluciones oftálmicas tópicas, con un pH por ejemplo entre aproximadamente 4 y aproximadamente 8. El establecimiento de un régimen de dosificación específico para cada individuo se deja a criterio de los facultativos. El ingrediente activo (por ejemplo, estatina) normalmente estará contenido en estas formulaciones en una cantidad entre aproximadamente 0,01% y aproximadamente 10% en peso de la composición o formulación, tal como entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 5% en peso, y preferentemente en una cantidad entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 2% y más preferentemente en una cantidad entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 1,0% en peso. La forma farmacéutica puede ser una microemulsión en solución o suspensión. Por ejemplo, para aplicación tópica, se administrarían 1 a 2 gotas de estas formulaciones a la superficie del ojo de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 veces al día a criterio del facultativo experto. Las composiciones de la presente invención pueden administrarse en una sola dosis o en múltiples dosis. Las composiciones de la presente invención pueden administrarse durante un día o múltiples días y la composición de la presente invención puede administrarse en días consecutivos o puede administrarse en un programa donde se produce un tratamiento un día pero no al día siguiente. En otras palabras, el tratamiento puede llevarse en días no consecutivos. El tratamiento puede llevarse durante por lo menos dos días consecutivos, por lo menos tres días consecutivos o más. Además, pueden producirse dosis múltiples el mismo día, en días consecutivos o en días o consecutivos. Cualquier combinación del régimen de dosis es posible.

Las composiciones pueden utilizarse también en combinación con otros agentes para tratar el glaucoma, tal como, pero sin limitarse a, β -bloqueadores (por ejemplo, timolol, betaxolol, levobetaxolol, carteolol, levobunolol o propranolol), inhibidores de anhidrasa carbónica (por ejemplo, brinzolamida y dorzolamida), antagonistas $\alpha 1$ (por ejemplo, nifradolol), agonistas $\alpha 2$ (por ejemplo, iopidina y brimonidina), mióticos (por ejemplo, pilocarpina y epinefrina), análogos de prostaglandina (por ejemplo, latanoprost, travoprost, bimatoprost, unoprostone y los compuestos indicados en las patentes USN° 5.889.052; n° 5.296.504; n° 5.422.368; n° 5.352.708; y n° 5.151.444) y neuroprotectores (por ejemplo, los compuestos de la patente US n° 4.690.931, particularmente eliprodil y R-eliprodil, como se indica en la solicitud U.S.S.N. 60/203.350 y en compuestos apropiados del documento WO 94/13275, incluyendo la memantina).

Ejemplo 1

Ensayo de inhibición de HMG-CoA reductasa

La actividad de la HMG-CoA reductasa puede evaluarse por el siguiente procedimiento de Shefer *et al.* [J. Lipid Res. 1972, 13, 402] tal como se describe en la solicitud de patente US publicada US n° 2003/0065020. El medio de ensayo completo contenía lo siguiente en un volumen total de 0,8 ml; tampón fosfato 100 mM, pH 7,2; MgCl₂, 3 mM; NADP, 3 mM; glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, 3 unidades enzimáticas; glutatión reducido 50 mM; HMG-CoA (glutamil-3-¹⁴C), 0,2 mM (0,1 μ Ci); y 100 μ l de solución madre enzimática purificada parcialmente.

ES 2 311 986 T3

Los compuestos de ensayo en forma de sal del ácido se añadieron al sistema de ensayo en volúmenes de 10 μl a las concentraciones seleccionadas. Después de incubación durante 40 minutos a 37°C con agitación y exposición al aire, se interrumpió la reacción mediante la adición de 0,4 ml de HCl 8 N. Después de 30 minutos adicionales de incubación a 37°C para asegurar la completa lactonización del ácido mevalónico a mevalonolactona, se añadieron 5 0,2 ml de la mezcla a una columna de 0,5 × 0,5 cm que contenía Bio-Rex 5 de 100 a 200 mesh, en forma cloruro (Bio-Rad), humedecido con agua destilada como describen Alberts *et al.* [Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1980, 77, 3967]. El [C^{14}]HMG-CoA sin reaccionar se absorbió en la resina y se eluyó el [C^{14}]mevalonato con agua destilada (2 × 1 ml) directamente en viales de centelleo de 7 ml. Se añadieron cinco mililitros de Aquasol-2 a cada vial, y se midió la radioactividad en un contador de centelleo se determinaron los valores de IC₅₀ representando el porcentaje 10 de inhibición frente a la concentración del compuesto de ensayo y ajustando a una línea recta los datos resultantes utilizando los métodos de mínimos cuadrados. Para la estimación de las potencias inhibidoras relativas, se utilizó la compactina como patrón y se le asignó un valor de 100 y el valor de IC₅₀ del compuesto de ensayo se comparó con el 15 de la compactina determinada simultáneamente.

15 Ejemplo 2 de referencia

Inhibición de la expresión del gen CTGF estimulada por TGF β 2

20 Se estudió la eficacia de las estatinas en la expresión del gen CTGF en células humanas cultivadas de la malla trabecular. Los resultados se resumen en las figuras 1 a 3. En estos experimentos, se midieron las concentraciones de ADNc de CTGF/18S por PCR de transcripción inversa cuantitativa (QPCR) y se compararon. Como puede apreciarse en el resumen de los resultados en las figuras 1 y 2, se probaron tres tipos diferentes de estatinas para determinar el efecto sobre el control de las concentraciones de CTGF. Como puede apreciarse en las figuras, cuando TGF β 2 estaba 25 presente en el vehículo, las concentraciones de CTGF eran muy elevadas. Sin embargo, cuando se introdujo una de las estatinas, estas concentraciones se redujeron significativamente del orden de más del 100%. La lovastatina inhibió la expresión de CTGF estimulada por TGF β 2 en función de la dosis con un valor de IC₅₀ de 75 nM (Fig. 3). Los resultados de este estudio demuestran claramente que las estatinas tienen un gran efecto sobre la expresión del gen 30 CTGF en las células cultivadas de la malla trabecular humana.

Ejemplo 3 de referencia

Protección contra la muerte de las células TM mediada por H₂O₂

35 Se ensayó el efecto del estrés oxidativo provocado por H₂O₂ sobre la viabilidad de las células D de HTM-35 (cepa de células TM humanas cultivadas) con y sin una estatina presente. En particular, se incubaron las célula en presencia o ausencia de agentes de ensayo en medio exento de suero durante 30 minutos (37°C, 5% de CO₂), seguido de lavado y sustitución con medio exento de suero durante dos días. Se evaluó a continuación la viabilidad mediante absorción 40 en rojo neutro. En la figura 4 se resumen los resultados, en la que las barras representan el medio y SEM de dos experimentos por separado, realizado cada uno por triplicado. Como puede apreciarse en la figura 4, con presencia de una estatina, los efectos de H₂O₂ sobre la viabilidad de las células HTM-35D se suprimieron o controlaron hasta niveles esencialmente comparables a cuando no estaba presente H₂O₂. Por lo tanto, estas pruebas muestran la capacidad de las estatinas para ser útiles en el tratamiento del glaucoma y para controlar o reducir la IOP.

45 Ejemplo 4 de referencia

Inhibición de la secreción de fibronectina de TM

50 Se ensayó el efecto de la lovastatina tanto en la secreción basal (vehículo) como estimulada de GTM-3 (TGF β 2) (cepa de células TM humana transformada) de fibronectina. Se incubaron células GTM-3 en presencia o ausencia de agentes de ensayo en medio exento de suero durante 24 h (37°C, 5% de CO₂), a continuación se determinaron los cambios en las concentraciones de fibronectina segregada por ELISA de los sobrenadantes celulares. Se realizaron 55 ensayos de absorción en rojo neutro en las monocapas de las células restantes, con el fin de determinar el efecto de los agentes de ensayo en la viabilidad de las células GTM-3. En la figura 5 se resumen los resultados. Como puede apreciarse fácilmente en la figura 5, la lovastatina suprimió la secreción de fibronectina estimulada por TGF β 2, además de la supresión de la secreción basal, sin afectar la viabilidad celular. Por lo tanto, en virtud de la capacidad para reducir la acumulación excesiva de la matriz extracelular (por ejemplo, fibronectina), las estatinas son útiles en el tratamiento 60 del glaucoma y para controlar o reducir la IOP.

Ejemplo 5 de referencia

65 *Respuesta de IOP aguda en ojos sometidos a rayos láser (hipertensores) de monos de Cynomolgus despiertos*

Se determinó la presión intraocular (IOP) con un neumatonómetro Alcon después de anestesia ligera de la córnea con proparacaína al 0,1%. Se lavaron los ojos con solución salina después de cada medición. Tras una medición de la

ES 2 311 986 T3

IOP de referencia, se instiló el compuesto de ensayo en una alícuota de 30 μl a los ojos derechos solamente de nueve monos de Cynomolgus. Se instiló el vehículo en los ojos derechos de seis animales más. Se tomaron mediciones ulteriores de IOP a las 1, 3 y 6 horas. La lovastatina, la fluvastatina, la atorvastatina y la pravastatina no redujeron de manera significativa la IOP después de una sola aplicación ocular tópica de 300 μg .

5

Ejemplo 6 de referencia

10 *Respuesta en ojos sometidos a rayos láser (hipertensor) de monos de Cynomolgus despiertos después de la dosis repetida*

15 En otro estudio, se midió la eficacia reductora de la presión intraocular de la lovastatina en monos con hipertensión ocular despiertos utilizando un diseño de estudio de cinco dosis en tres días. Se administró el compuesto de la prueba en una alícuota de 30 μl al ojo sometido a rayo láser (trabeculoplastia de láser unilateral) de ocho animales. Se instiló el vehículo en los ojos sometidos a rayos láser de seis animales más como referencia. Se instilaron las dosis 1, 2 y 5 a las 09:00 horas tres días consecutivos; las dosis 2 y 4 a las 16:30 horas los días 1 y 2. Se midió la IOP a las 1, 3 y 6 horas después de las dosis 1 y 5. Se midió también la IOP a las 16 horas después de la dosis 4. Se determinó el cambio de porcentaje a partir del tiempo 0 de referencia para cada animal en cada medición de IOP.

20 La lovastatina redujo la IOP en el ojo del mono sometido a láser en un 22,8% de promedio (8,3 mm Hg), 21,5% (8,1 mm Hg) y 25,5% (9,5 mm Hg) a las 1, 3 y 6 horas, respectivamente, en los monos sometidos a láser después de la quinta instilación tópica de 300 μg . Hubo una reducción media en la IOP del 12,5% en el grupo de referencia. En un estudio posterior, en el que se administraron nueve dosis de lovastatina durante un periodo de cinco días, se redujo la IOP hasta el 7,4%.

25 Las formulaciones siguientes pueden realizarse en el contexto de la presente invención.

Ejemplo 7 de referencia

30

| Ingredientes | Cantidad (% peso) |
|------------------------------------|------------------------------------|
| Estatina, tal como lovastatina | 0,01-2% |
| Hidroxipropilmetylcelulosa | 0,5% |
| Fosfato sódico dibásico (anhidro) | 0,2% |
| Cloruro sódico | 0,5% |
| EDTA disódico (edetato disódico) | 0,01% |
| Polisorbato 80 | 0,05% |
| Cloruro de benzalconio | 0,01% |
| Hidróxido sódico/ácido clorhídrico | Para ajustar el pH entre 7,3 y 7,4 |
| Agua purificada | c.s. para 100% |

55

60

65

ES 2 311 986 T3

| Ingredientes | Cantidad (% peso) |
|------------------------------------|------------------------------------|
| Estatina, tal como lovastatina | 0,01-2% |
| Metilmethylcelulosa | 4,0% |
| Fosfato sódico dibásico (anhidro) | 0,2% |
| Cloruro sódico | 0,5% |
| EDTA disódico (edetato disódico) | 0,01% |
| Polisorbato 80 | 0,05% |
| Cloruro de benzalconio | 0,01% |
| Hidróxido sódico/ácido clorhídrico | Para ajustar el pH entre 7,3 y 7,4 |
| Agua purificada | c.s. para 100% |

| Ingredientes | Cantidad (% peso) |
|------------------------------------|------------------------------------|
| Estatina, tal como lovastatina | 0,01-2% |
| Goma guar | 0,4-6,0% |
| Fosfato sódico dibásico (anhidro) | 0,2% |
| Cloruro sódico | 0,5% |
| EDTA disódico (edetato disódico) | 0,01% |
| Polisorbato 80 | 0,05% |
| Cloruro de benzalconio | 0,01% |
| Hidróxido sódico/ácido clorhídrico | Para ajustar el pH entre 7,3 y 7,4 |
| Agua purificada | c.s. para 100% |

| Ingredientes | Cantidad (% peso) |
|--|------------------------------------|
| Estatina, tal como lovastatina | 0,01-2% |
| Vaselina blanca, aceite mineral y lanolina | Consistencia de pomada |
| Fosfato sódico dibásico (anhidro) | 0,2% |
| Cloruro sódico | 0,5% |
| EDTA disódico (edetato disódico) | 0,01% |
| Polisorbato 80 | 0,05% |
| Cloruro de benzalconio | 0,01% |
| Hidróxido sódico/ácido clorhídrico | Para ajustar el pH entre 7,3 y 7,4 |

REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización de una estatina seleccionada de entre rosuvastatina, pitavastatina, berivastatina, glenvastatina, o un derivado de las mismas, o una combinación de las mismas, en la preparación de un medicamento destinado al tratamiento del glaucoma en un paciente.
- 10 2. Utilización de una estatina seleccionada de entre rosuvastatina, pitavastatina, berivastatina, glenvastatina, o un derivado de las mismas, o una combinación de las mismas, en la preparación de un medicamento destinado al control de la presión intraocular normal o elevada en un paciente.
- 15 3. Utilización de una estatina seleccionada de entre rosuvastatina, pitavastatina, berivastatina, glenvastatina, o un derivado de las mismas, o una combinación de las mismas, en la preparación de un medicamento destinado a conservar la malla trabecular de un paciente.
- 20 4. Utilización de una estatina seleccionada de entre rosuvastatina, pitavastatina, berivastatina, glenvastatina, o un derivado de las mismas, o una combinación de las mismas, en la preparación de un medicamento destinado a la protección contra la neurodegeneración ocular en un paciente.
- 25 5. Utilización de una estatina seleccionada de entre rosuvastatina, pitavastatina, berivastatina, glenvastatina, o un derivado de las mismas, o una combinación de las mismas, en la preparación de un medicamento destinado a la protección contra la retinopatía glaucomatosa en un paciente.
- 30 6. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho medicamento es para la administración tópica a por lo menos un ojo de dicho paciente.
- 35 7. Utilización según la reivindicación 6, en la que dicha estatina presenta un valor del índice de retención (IR) de la cromatografía líquida a alta presión en fase inversa de 0,2 a 0,7.
- 40 8. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho medicamento es para la administración intraocular a por lo menos un ojo de dicho paciente.
- 45 9. Composición que comprende una estatina seleccionada de entre rosuvastatina, pitavastatina, berivastatina, glenvastatina, o un derivado de las mismas, o una combinación de las mismas, desde 0,05% a 2,0% en peso de dicha composición, para su utilización en el tratamiento del glaucoma en un paciente, para controlar la presión intraocular normal o elevada en un paciente, para conservar la malla trabecular en un paciente, para la protección contra la neurodegeneración ocular en un paciente, o para la protección contra la retinopatía glaucomatosa en un paciente.
- 50 10. Composición según la reivindicación 9, que comprende además, un β -bloqueador, un inhibidor de anhidrasa carbónica, un antagonista α 1, un agonista α 2, un miótico, un análogo de prostaglandina, un neuroprotector o cualquier combinación de los mismos.
- 55 11. Composición según la reivindicación 9, que comprende además, por lo menos un inhibidor de anhidrasa carbónica.

45

50

55

60

65

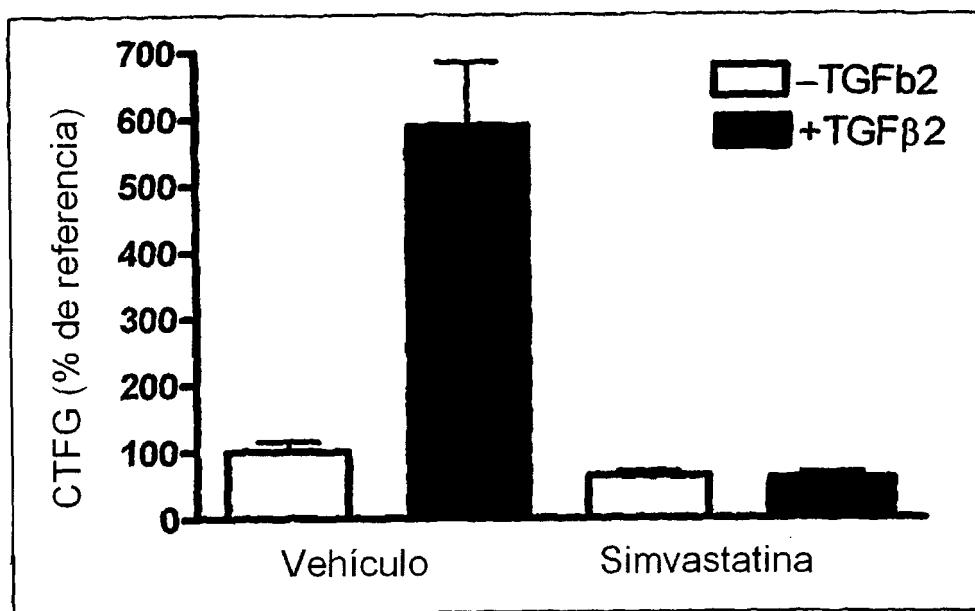


Fig. 1

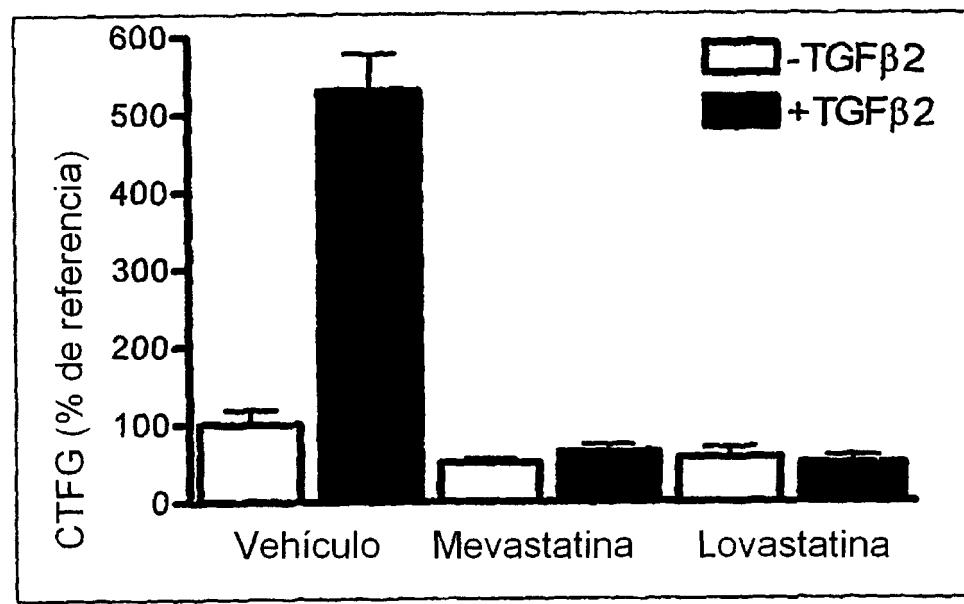


Fig. 2

ES 2 311 986 T3

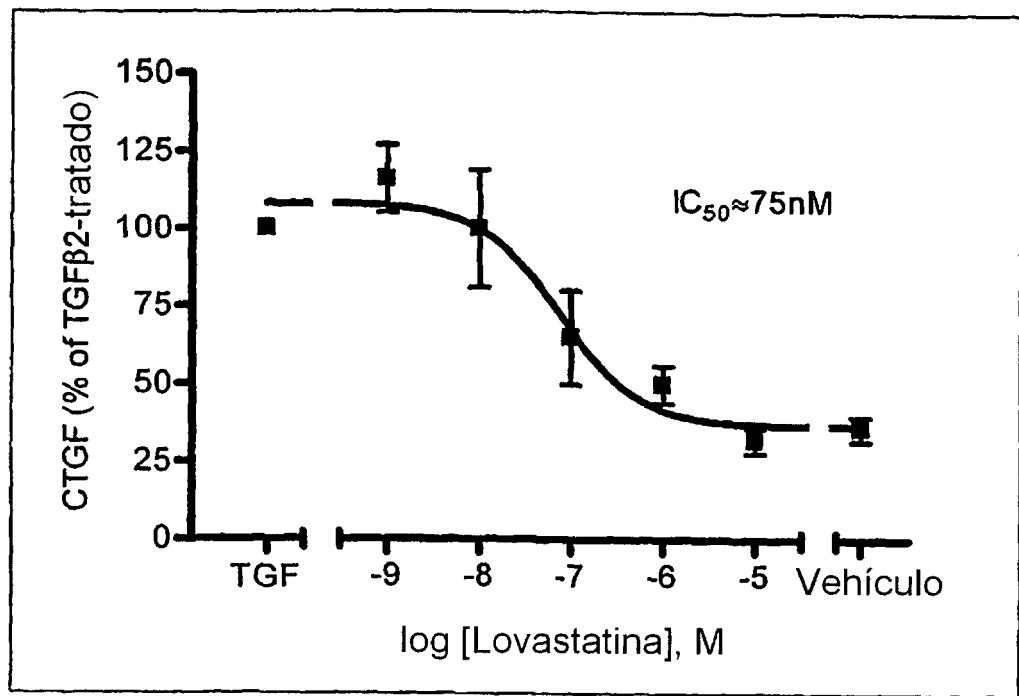
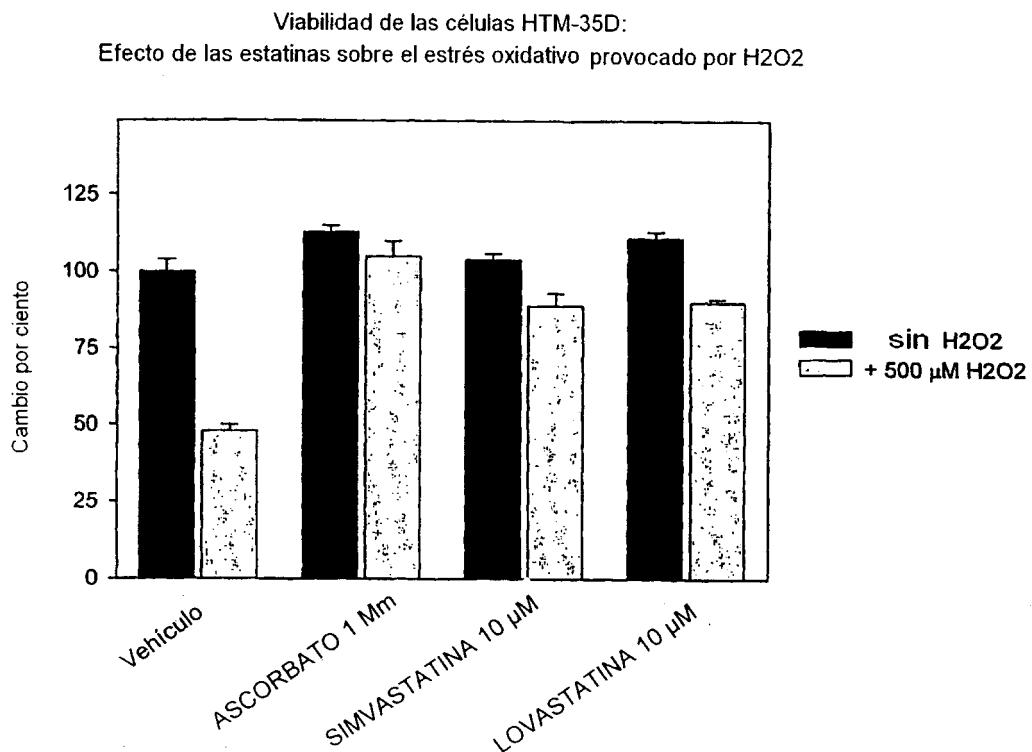


Fig. 3

ES 2 311 986 T3



Se incubaron células en presencia o ausencia de agentes de ensayo en medio exento de suero durante 30 min. (37°C, 5% de CO₂), seguido de lavado y sustitución con medio exento de suero durante 2 días. Se evaluó a continuación la viabilidad por absorción del rojo neutro. Las barras representan la media y la SEM de dos experimentos independientes, realizado cada uno por triplicado.

Fig. 4

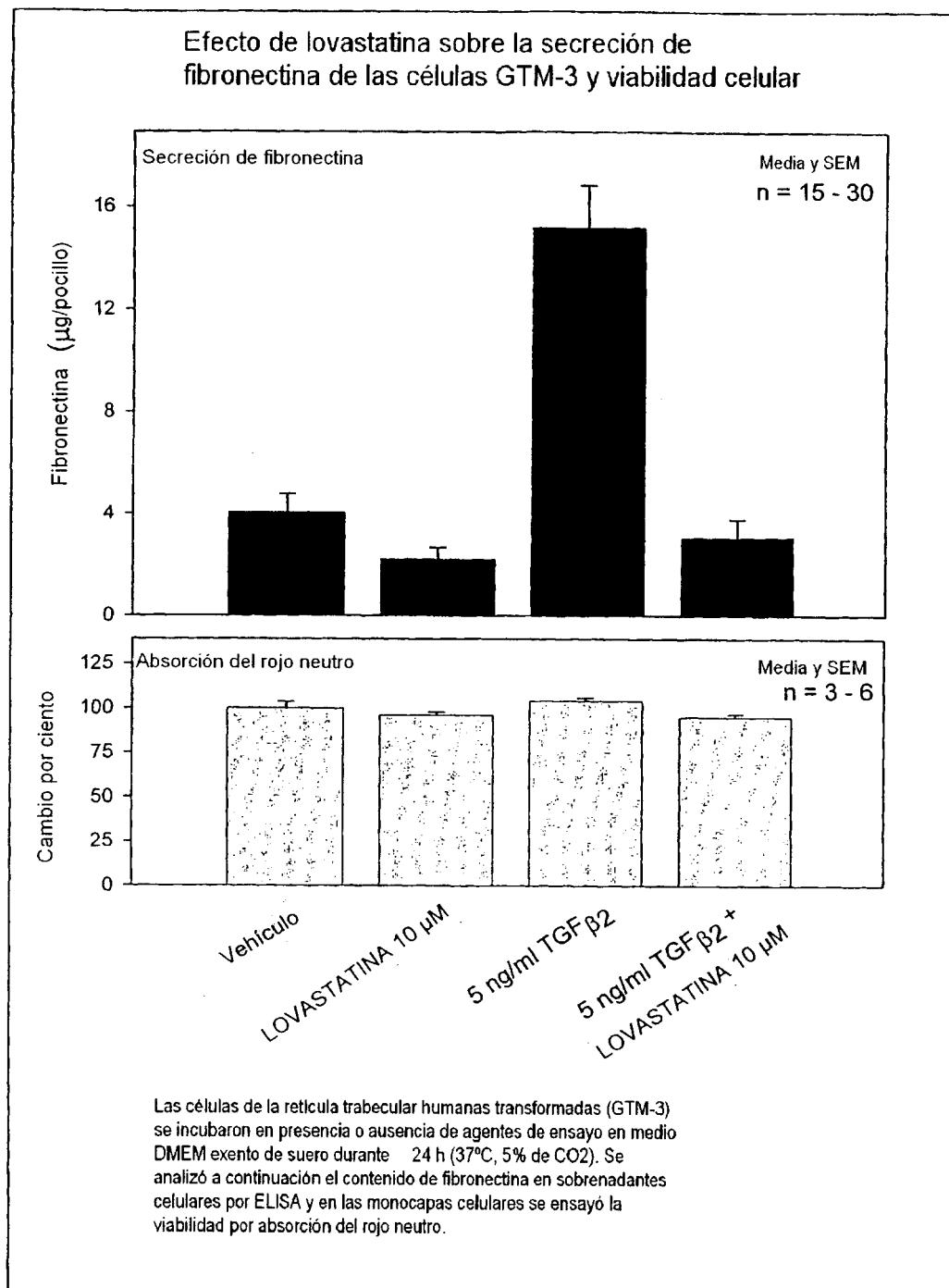


Fig. 5