

(11) Número de Publicação: **PT 2422765 E**

(51) Classificação Internacional:

A61K 9/00 (2015.01) **A61K 47/26** (2015.01)
A61K 47/38 (2015.01) **A61K 38/00** (2015.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2005.11.14	(73) Titular(es): ALLERGAN, INC. 2525 DUPONT DRIVE IRVINE CA 92612 US
(30) Prioridade(s): 2004.11.16 US 990811	
(43) Data de publicação do pedido: 2012.02.29	(72) Inventor(es): JOSEPH G. VEHIGE US PETER A. SIMMONS US JOAN-EN CHANG-LIN US
(45) Data e BPI da concessão: 2015.04.29 181/2015	(74) Mandatário: MARIA TERESA DELGADO AVENIDA DA LIBERDADE, Nº 69, 3º D 1250-140 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **COMPOSIÇÕES OFTÁLMICAS E MÉTODOS PARA TRATAMENTO DOS OLHOS**

(57) Resumo:

AS COMPOSIÇÕES OFTÁLMICAS INCLUINDO COMPONENTES SOLUTO COMPATÍVEIS E/OU COMPONENTES POLIANIÓNICOS SÃO ÚTEIS NO TRATAMENTO DE OLHOS, POR EXEMPLO, PARA ALIVIAR A SÍNDROME DO OLHO SECO, PARA PROTEGER OS OLHOS CONTRA INSULTO HIPERTÔNICO E/OU OS EFEITOS ADVERSOS DE ESPÉCIES CATIONICAS NAS SUPERFÍCIES OCULARES DOS OLHOS E/OU PARA FACILITAR A RECUPERAÇÃO DA CIRURGIA DO OLHO.

RESUMO**"COMPOSIÇÕES OFTÁLMICAS E MÉTODOS PARA TRATAMENTO DOS OLHOS"**

As composições oftálmicas incluindo componentes soluto compatíveis e/ou componentes polianiónicos são úteis no tratamento de olhos, por exemplo, para aliviar a síndrome do olho seco, para proteger os olhos contra insulto hipertónico e/ou os efeitos adversos de espécies catiónicas nas superfícies oculares dos olhos e/ou para facilitar a recuperação da cirurgia do olho.

DESCRIÇÃO

"COMPOSIÇÕES OFTÁLMICAS E MÉTODOS PARA TRATAMENTO DOS OLHOS"

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A presente invenção está relacionada com composições oftálmicas e métodos úteis para o tratamento dos olhos. Mais especificamente, a presente invenção está relacionada com composições oftálmicas incluindo misturas de componentes que são eficazes a proporcionar uma proteção desejada às superfícies oculares dos olhos de humanos ou animais, e com métodos para o tratamento de olhos de humanos ou animais, utilizando composições oftálmicas, por exemplo, as presentes composições oftálmicas.

Os olhos dos mamíferos, tais como os olhos dos humanos e de outros mamíferos (animais), estão, de forma vantajosa, adequadamente lubrificados para proporcionar conforto ao olho e para fornecer, de forma mais eficaz, uma visão boa e clara. Normalmente, essa lubrificação é obtida naturalmente a partir de uma película lacrimal, a qual é formada sobre a superfície ocular externa e exposta do olho. Esta película de lágrima é um fluido complexo que é normalmente reabastecido de forma contínua pelas glândulas lacrimal, meibomiana, e outras, e quando intacto proporciona hidratação e nutrientes essenciais à superfície ocular. Além de revestir e proteger a superfície ocular delicada, a interface película lacrimal/ar também serve como superfície de refração inicial do olho. No entanto, em muitos casos, esta película lacrimal não se encontra presente em quantidade suficiente, e pode ocorrer uma condição conhecida como "olho seco".

Um número relativamente grande de composições tem sido sugerido para uso no tratamento e manejo da síndrome do olho seco. Têm sido usadas, por exemplo, lágrimas artificiais, ou seja, materiais com composição química que mimetizam ou se assemelham ao funcionamento da lágrima natural. Tais lágrimas artificiais requerem, frequentemente, um uso muito frequente já que são rapidamente perdidas pelo olho. Além disso, apesar de humedecerem o olho, o seu valor lubrificante é de alguma forma inferior ao desejado. Composições que incluem lubrificantes específicos têm sido sugeridas. Por exemplo, várias composições incluindo carboximetilceluloses (CMCs) têm sido usadas nos olhos.

Sob condições normais, a superfície ocular de um olho humano ou animal é banhada com lágrimas com uma força osmótica normal, por exemplo, substancialmente isotónica. Se esta força osmótica é aumentada, as células sobre a superfície ocular estão expostas a um ambiente hiperosmótico ou hipertónico, resultando numa redução adversa no volume celular devido à perda trans-epitelial de água, e outras alterações indesejadas. Os mecanismos compensatórios são limitados em muitos aspectos, levando ao comprometimento da superfície ocular e ao desconforto. Por exemplo, as células podem tentar equilibrar a pressão osmótica através do aumento da concentração interna de electrólitos. No entanto, com níveis elevados de electrólitos, o metabolismo celular é alterado de muitas maneiras, incluindo a redução na atividade enzimática e danos membranares. Além disso, tem sido mostrado que um ambiente hipertónico é pró-inflamatório para a superfície ocular.

As células de muitas formas de vida podem compensar condições hipertónicas através da acumulação natural ou produção dos chamados "solutos compatíveis", que funcionam como electrólitos para equilibrar a pressão osmótica sem interferir com o metabolismo celular, como fazem os eletrólitos. Os solutos compatíveis ou agentes de soluto compatíveis, em geral, não têm carga, podem ser mantidos dentro de uma célula viva, por exemplo, uma célula ocular, têm um peso molecular relativamente pequeno e são, pelo contrário, compatíveis com o metabolismo celular. Os solutos compatíveis também são considerados osmoprotectores uma vez que podem permitir o metabolismo celular e/ou aumentar a sobrevivência das células sob condições hipertónicas que de outra forma seriam restritivas.

Por exemplo, existe uma classe de organismos chamados halófilos que habita ambientes hipersalinos tais como lagos salgados, bacias de águas profundas e lagoas de evaporação artificialmente criadas. Estes organismos podem ser eucarióticas ou procarióticas, e têm mecanismos de síntese e/ou acumulação de uma variedade de agentes de soluto compatíveis, incluindo polióis, açúcares e aminoácidos e seus derivados tais como glicina, betaína, prolina, ectoína, e semelhantes.

A glicerina (glicerol) é um agente osmótico amplamente utilizado que tem sido identificado como um soluto compatível em várias células de várias espécies diferentes. Também é considerado um humidificador e lubrificante oftálmico. Nos E.U.A, é aplicado topicamente na superfície ocular para aliviar a irritação em concentrações de até 1%, e foi usado em concentrações mais elevadas para conferir força osmótica em medicamentos prescritos. Devido ao seu pequeno tamanho e origem biológica, deve atravessar

facilmente as membranas celulares, e foram recentemente identificados canais de transporte em alguns tipos de células para facilitar o movimento do glicerol.

Embora o glicerol possa servir como o único soluto compatível, este pode ser excessivamente móvel, ou seja, pode atravessar as membranas demasiado livremente, para fornecer um benefício amplo em certos sistemas. Um exemplo é a película lacrimal humana onde os níveis naturais de glicerol são baixos. Quando é aplicada uma preparação tópica, é provável que ocorra a migração para dentro da célula bastante rapidamente. No entanto, à medida que a concentração na lágrima diminui, o glicerol pode ser perdido ao longo do tempo, da célula para a película lacrimal, o que limita a duração dos benefícios.

Outra grande classe de compostos com propriedades osmoprotetoras numa grande variedade de tecidos é a classe dos aminoácidos. Em particular, foi mostrado que a betaína (trimetil glicina) é ativamente absorvida pelas células renais em resposta a desafios osmóticos, e a taurina é acumulada por células oculares sob condições hipertónicas.

Continua a haver uma necessidade de proporcionar composições oftálmicas, por exemplo, lágrimas artificiais, gotas para os olhos e afins, que sejam compatíveis com as superfícies oculares dos olhos de humanos ou de animais e sejam, de forma vantajosa, eficazes para permitir que tais superfícies oculares tolerem melhor as condições hipertónicas.

Têm sido utilizadas nos olhos, composições hipotónicas como método para compensar os efeitos das condições hipertónicas. Estas composições inundam eficazmente a superfície ocular com água, que entra rapidamente nas

células quando fornecida como uma lágrima artificial hipotónica. Devido à rápida mobilidade da água para dentro e para fora das células, qualquer benefício dum composição hipotónica será, no entanto extremamente curto.

Além disso, demonstrou-se que as células que se deslocam de um ambiente hipertónico para um ambiente isotónico ou hipotónico, regulam negativamente os mecanismos de transporte para as células acumularem solutos compatíveis. Assim, a utilização de uma lágrima artificial hipotónica reduz a capacidade das células suportarem a hipertonicidade quando esta regressa, pouco tempo após a administração da gota.

A observação clínica de que agentes, tais como a carboximetilcelulose de sódio (CMC) e o hialuronato de sódio (SH), são úteis no tratamento dos sinais e sintomas da síndrome ou doença do olho seco está bem estabelecida. Estes dois agentes polianiónicos também têm mostrado ser particularmente úteis em condições em que ocorre o compromisso induzido da córnea (procedimentos cirúrgicos CMC e LASIK) ou insulto alérgico da córnea (úlceras SH e de escudo em alergias).

Além disso, a película lacrimal dos olhos de humanos ou de animais, presumivelmente normais, pode ter níveis elevados (detectáveis) da proteína básica principal (MBP) enquanto, anteriormente se acreditava que esta proteína só era expressada em condições alérgicas com envolvimento eosinofílico (alergia fase tardia). Sabe-se agora que a MBP é produzida por mastócitos (MC), bem como por eosinófilos, os quais normalmente são conhecidos por residir dentro dos tecidos da superfície ocular e por terem atividade de desgranulação, libertando a MBP e outros compostos

catiônicos, sob estimulação antigénica, trauma mecânico, e outras condições.

Um outro grupo de proteínas catiónicas ativas na superfície ocular é uma ou mais das defensinas, que são normalmente parte do sistema de defesa antimicrobiano do organismo. As defensinas são encontradas em níveis aumentados na película lacrimal de pacientes com olho seco, e podem, quer diretamente quer através da interação com outras substâncias, ter efeitos adversos sobre a saúde da superfície ocular.

Existem tratamentos reconhecidos projetados para reduzir a probabilidade de desgranulação dos MC, a maioria dos quais são usados na superfície ocular em conjunto com o tratamento da conjuntivite alérgica sazonal ou perene. No entanto, uma vez que ocorra a desgranulação, não existem tratamentos reconhecidos para adsorver, limpar ou desativar os mediadores catiónicos libertados, incluindo a MBP. A irrigação salina diluiria os agentes, mas é impraticável na maioria dos casos. Além disso, dados recentes indicam que existe MBP detectável na superfície ocular mesmo em olhos não-alérgicos, o que significa que um excesso de MBP e potenciais danos de baixo grau na superfície ocular podem ocorrer a pessoas em qualquer momento.

Seria vantajoso proporcionar composições oftálmicas eficazes para atenuar ou reduzir os efeitos adversos de material catiónico, por exemplo, material policatiónico, nas superfícies oculares dos olhos humanos ou animais.

RESUMO DA INVENÇÃO

Foram descobertas novas composições oftálmicas para tratamento de olhos e novos métodos de tratamento de olhos.

As presentes composições tratam os olhos de forma muito eficaz, por exemplo, olhos que sofrem ou são susceptíveis a doenças/condições, tais como, sem limitações, a síndrome do olho seco, os ambientes de baixa humidade, e stress/traumatismo, por exemplo, devido a procedimentos cirúrgicos, e semelhantes. Em particular, estas composições seriam úteis para mitigar os efeitos nocivos duma película lacrimal hipertónica, independentemente da causa. As presentes composições são relativamente simples, podem ser produzidas facilmente e a baixo custo, e podem ser administradas, por exemplo, por via tópica, na superfície ocular dum olho, de forma muito conveniente.

Num aspecto amplo da presente invenção, são fornecidas composições oftálmicas, como definidas na reivindicação 1. Numa forma de realização adicional, o componente de tonicidade compreende um material selecionado a partir de combinações de pelo menos dois agentes de soluto compatíveis diferentes.

As osmolalidades de tais composições são muitas vezes maiores ou superiores que isotónicas, por exemplo, num intervalo de pelo menos 310 a cerca de 600 ou cerca de 1000 mOsmol/kg.

Em cada um dos aspectos da invenção acima mencionados, as presentes composições têm, de forma vantajosa, constituintes químicos, de maneira que o material ou a mistura de soluto orgânico compatível incluído no componente de tonicidade seja eficaz, quando a composição é administrada a um olho, para permitir que uma superfície ocular do olho tolere melhor uma condição hipertónica na superfície ocular em relação a uma composição idêntica sem o material ou a mistura de agentes de soluto orgânicos compatíveis.

O componente de tonicidade está presente numa quantidade eficaz para proporcionar à composição uma osmolalidade desejada, e compreende um componente de soluto compatível. O componente polianiónico está presente numa quantidade, quando a composição é administrada a um olho humano ou animal, para reduzir pelo menos um efeito adverso de um material catiónico, por exemplo, um material policatiónico, numa superfície ocular de um olho humano ou animal, relativa a uma composição idêntica sem o componente polianiónico. Este material catiónico pode ser de qualquer origem, por exemplo, pode ser endógeno, um contaminante ambiental, ou uma consequência indesejada da aplicação dum agente no olho, por exemplo uma solução de preservação ou um produto para o cuidado de lentes de contacto. Numa forma de realização muito útil, o ácido hialurónico não é o único componente polianiónico. Outros componentes polianiónicos são mais adequados para uso nas presentes composições, por exemplo, são mais adequados do que o ácido hialurónico ou os seus sais para a administração tópica à superfície ocular de um olho de um ser humano ou animal. A composição tem uma osmolalidade no intervalo de 300 a 600 ou 1000 mOsmol/kg.

Também são descritos os métodos de tratamento de olhos de seres humanos ou animais. Tais métodos compreendem a administração de uma composição de acordo com a presente invenção, num olho humano ou animal, para proporcionar pelo menos um efeito benéfico ao olho.

Quaisquer e todas as características aqui descritas e combinações de tais características estão incluídas dentro do âmbito da presente invenção, desde que as características de qualquer uma das tais combinações não sejam mutuamente incompatíveis.

Estes e outros aspetos da presente invenção são tornados claros na seguinte descrição detalhada, desenhos anexos, exemplos e reivindicações.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 é uma representação gráfica da intensidade em relação às quinases c-Jun N-terminal fosforiladas (p-JNK1 e p-JNK2) de certas composições oftálmicas.

A Figura 2 é uma representação gráfica da intensidade em relação às p-JNK1 e JNK2 p de outras composições oftálmicas.

A Figura 3 é uma representação gráfica das razões entre Fosforiladas:JNK total de certas composições oftálmicas obtidas usando o método Beadlyte.

A Figura 4 é uma representação gráfica das razões entre fosfo: MAP p38 quinase total de certas composições oftálmicas obtidas usando o método Beadlyte.

A Figura 5 é uma representação gráfica das razões entre fosfo: MAP ERK quinase total de certas composições oftálmicas obtidas usando o método Beadlyte.

A Figura 6 é uma representação gráfica de um resumo dos efeitos dependentes da concentração sobre a resistência eléctrica trans-epitelial (TEER) para várias composições oftálmicas.

A Figura 7 é uma representação gráfica dos efeitos sobre a TEER de várias composições oftálmicas incluindo composições

que compreendem combinações de agentes de soluto compatíveis.

A Figura 8 é uma representação gráfica dos efeitos sobre a TEER de várias outras composições oftálmicas incluindo composições que compreendem combinações de agentes de soluto compatíveis.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção é dirigida a composições oftálmicas úteis no tratamento de olhos humanos ou animais. Como referido acima, num aspecto da invenção, são fornecidas composições como definidas na reivindicação 1. Tais composições incluem, de forma vantajosa, uma quantidade eficaz de um material de modo que, quando a composição é administrada a um olho, o material é eficaz para permitir que uma superfície ocular de um olho tolere melhor uma condição hipertónica na superfície ocular, em relação a uma composição idêntica sem o material.

Tais composições têm osmolalidades superiores à osmolalidade isotónica. As presentes composições apresentam osmolalidades num intervalo de, pelo menos, 300 ou 310 a 600 ou 1000 mOsmol/kg.

O eritritol é compreendido nas composições da presente invenção. Outros polióis, tais como componentes de xilitol, componentes de inositol, componentes semelhantes e misturas dos mesmos, são agentes osmóticos/de tonicidade eficazes, e podem ser incluídos, por si só ou em combinação com glicerol e/ou outros agentes de soluto compatíveis, nas presentes composições. Sem pretender limitar a invenção a qualquer teoria específica de funcionamento, acredita-se que, devido ao seu grande tamanho em relação ao glicerol, o

eritritol e os outros componentes polióis acima, quando usados topicamente no olho, se acumulam nas células mais lentamente que o glicerol, mas permanecem dentro das células por períodos mais prolongados de tempo em relação ao glicerol.

Numa forma de realização muito útil, misturas de dois ou mais componentes de soluto compatíveis diferentes, por exemplo, o glicerol e/ou um ou mais componentes de poliol e/ou um ou mais componentes de soluto compatíveis, por exemplo, um ou mais componentes de aminoácidos sem carga ou zwitteriônicos e semelhantes, podem ser utilizados vantajosamente em conjunto para fornecer um ou mais benefícios ao olho, que não são obtidos utilizando composições que incluem apenas um único componente de soluto compatível.

Como aqui usado, o termo "componente" utilizado em relação a um determinado composto, refere-se ao composto em si, a isómeros e a estereoisómeros, se houver, do composto, a sais adequados do composto, a derivados do composto, a semelhantes e a misturas dos mesmos.

Tal como aqui usado, o termo "derivado", já que se refere a um determinado composto, refere-se a um composto possuindo uma composição ou estrutura química suficientemente semelhante a um dado composto, de forma a funcionar de maneira substancialmente semelhante a substancialmente idêntica ao dado composto, nas presentes composições e/ou métodos.

O conforto e a tolerabilidade podem ser considerados na formulação das presentes composições. A quantidade de componente de soluto orgânico compatível usado nas presentes composições deverá ser eficaz no fornecimento de,

pelo menos, um benefício para o olho dum paciente, sem afectar de forma adversa o paciente, por exemplo, sem induzir um desconforto excessivo, lacrimejamento reflexo e efeitos adversos semelhantes.

Para um formulador experiente na arte, é possível fazer líquidos e géis espessos que são retidos por períodos mais prolongados de tempo que os fluidos finos na superfície ocular, sendo o compromisso muitas vezes uma visão turva transitória. Líquidos e géis espessos têm, no entanto, a vantagem de necessitarem de uma dosagem menos frequente para entregar uma determinada quantidade de substância.

O xilitol ou o eritritol usados de forma isolada podem necessitar de um tempo de contacto prolongado para permitir que funcionem de forma eficaz como um componente de soluto compatível, por exemplo, devido ao tempo necessário para a absorção celular. No entanto, uma vez *in situ*, por exemplo, dentro de células da superfície ocular, a ação benéfica de equilíbrio de condições hipertónicas é, de forma vantajosa, mais longa do que com uma quantidade equivalente de glicerol, que se move mais rapidamente para dentro e para fora das células. Tal benefício mais duradouro e a dosagem menos frequente podem ser obtidos sem visão turva.

Numa forma de realização, as presentes composições incluem uma mistura ou combinação de agentes de soluto compatíveis, sendo, vantajosamente, cada agente de natureza química diferente e/ou tendo um tamanho e/ou mobilidade molecular diferentes. Pequenos agentes móveis oferecem uma eficácia rápida mas de curta duração, por exemplo, proteção contra um insulto hipertónico, enquanto agentes grandes e menos móveis oferecem uma eficácia de proteção lenta, mas mais duradoura.

O xilitol, o eritritol e o glicerol têm concentrações elevadas do grupo hidroxilo: um por carbono. Os grupos hidroxilo permitem uma maior retenção de água e aumentam a solubilidade do composto. Em composições para o tratamento da síndrome do olho seco, tal concentração elevada do grupo hidroxilo pode melhorar o desempenho da composição, impedindo a perda de água a partir dos tecidos.

Entre os polióis, o xilitol 5-carbono, o eritritol 4-carbono, e o glicerol 3-carbono são os preferidos para utilização oftálmica. A forma de 2-carbonos (etilenoglicol) é uma toxina bem conhecida e não é adequada. As formas de 6-carbonos (manitol, sorbitol, e compostos deoxi relacionados) podem ser úteis em combinação com as moléculas mais pequenas. Numa forma de realização, as combinações de polióis com 3 a 6 átomos de carbono, e um ou dois derivados de deoxi de carbono, incluindo, sem limitações, os isómeros, os estereoisómeros e semelhantes, conforme o caso, podem ser úteis na presente invenção.

Os aminoácidos sem carga ou zwitteriônicos são úteis como componentes de soluto orgânicos compatíveis de acordo com a presente invenção.

Os componentes de carnitina, por exemplo, a carnitina em si, os isómeros/estéreo-isómeros da mesma, os sais da mesma, seus derivados e semelhantes e as misturas dos mesmos, estão compreendidos nas composições da presente invenção e são componentes de soluto compatíveis muito úteis para serem utilizados nas presentes composições oftálmicas. Sabe-se que a carnitina é necessária em várias partes do metabolismo dos ácidos gordos, por isso, tem um papel significativo no metabolismo do fígado e células musculares. A carnitina pode servir como fonte de energia para vários tipos de células, incluindo células oculares.

Os componentes de carnitina podem ter propriedades únicas em vários papéis, por exemplo, como osmoprotetores no metabolismo dos ácidos gordos, como antioxidantes na promoção da cicatrização de feridas, como proteína chaperona, e na neuroprotecção.

O componente de soluto orgânico compatível pode ser vantajosamente proporcionado nas presentes composições, usando uma combinação de tais agentes ou materiais de diferentes tamanhos, mobilidade, e mecanismo de ação. Pequenos agentes móveis, tais como os polióis mais pequenos, poderiam oferecer uma osmoproteção rápida mas de curta duração. Vários dos aminoácidos e compostos relacionados podem funcionar como solutos compatíveis de longa ação intracelular e estabilizadores de proteínas. Na presente invenção, os componentes de carnitina podem ser usados de forma isolada ou em combinação com um ou mais componentes de soluto orgânicos compatíveis amino e/ou polióis, por exemplo, como aqui descrito.

Os componentes orgânicos de soluto compatíveis à base de amina e/ou os componentes que podem ser usados incluem, mas não estão limitados a, betaína, taurina, carnitina, sarcosina, prolina, trimetilaminas em geral, outros aminoácidos zwitteriônicos, semelhantes e misturas dos mesmos. Os polióis que podem ser úteis em combinação com a carnitina (e, opcionalmente, um dos outros componentes de soluto orgânicos compatíveis à base de amina) incluem, mas não estão limitados a, glicerol, propilenoglicol, eritritol, xilitol, mio-inositol, manitol, sorbitol, semelhantes e misturas dos mesmos, dos quais o eritritol é composto juntamente com a carnitina.

A quantidade do componente de soluto compatível incluído nas presentes composições pode ser qualquer quantidade

adequada. No entanto, tal quantidade é eficaz, de forma vantajosa, a proporcionar um benefício para o olho, como resultado da administração da composição que contém o componente de soluto compatível no olho. Quantidades excessivas de componentes de soluto compatíveis devem ser evitadas, uma vez que tais quantidades podem causar desconforto ao paciente e/ou potencial perigo para o olho a ser tratado. O componente de soluto compatível está presente, de forma vantajosa, numa quantidade eficaz para proporcionar à composição a desejada osmolalidade.

A quantidade específica de componente de soluto compatível utilizado pode variar dentro de um grande intervalo dependendo, por exemplo, da composição química geral e da utilização pretendida da composição, da osmolalidade desejada da composição, do soluto compatível ou combinação de tais solutos a serem utilizados e factores semelhantes. Numa forma de realização, a quantidade total de componente de soluto compatível incluído nas presentes composições pode estar num intervalo de cerca de 0.01% (p/v) ou cerca de 0.05% (p/v) a cerca de 1% (p/v) ou cerca de 2% (p/v) ou cerca de 3% (p/v) ou mais.

As células da superfície da córnea respondem às forças osmóticas regulando o transporte de sal e de água num esforço para manter um volume celular constante. Em condições de hipertonicidade crónica, tal como existe, por exemplo, na doença do olho seco, os mecanismos de transporte para a absorção de solutos compatíveis, incluindo vários aminoácidos e polióis, são regulados positivamente. Numa forma de realização da presente invenção, as composições oftálmicas, por exemplo, lágrimas artificiais, contendo um componente de soluto compatível, são formuladas para ter uma tonicidade superior ou um

excesso de isotonicidade, de forma vantajosa, num intervalo de tonicidade de 300 ou 310 a 600 ou 1000 mOsmol/kg. Sem pretender limitar a invenção a qualquer teoria específica de funcionamento, acredita-se que, sob tais condições, são estimulados tanto os mecanismos imediatos como os mecanismos a longo prazo para acumular solutos compatíveis em células, o que permite aumentar a absorção e retenção em comparação com a atividade celular sob condições isotónicas ou hipotónicas. Uma vez que o componente de soluto compatível seja acumulado pelas células, as células têm uma maior proteção contra um insulto hipertónico causado, por exemplo, pela síndrome do olho seco e/ou uma ou mais condições/doenças. Os resultados desta proteção reforçada incluem a melhoria do metabolismo celular e a sobrevivência por um período de horas a dias, após a aplicação de uma composição oftálmica da presente invenção.

No sistema lacrimal normal, a produção, drenagem e evaporação das lágrimas é equilibrada de forma a proporcionar uma superfície ocular húmida e lubrificada. Os valores típicos para osmolalidade da lágrima variam de 290 a 310 mOsmol/kg em indivíduos normais, e estes podem mudar ao longo do dia ou em resposta às mudanças das condições ambientais. No indivíduo normal, o feedback neural da superfície ocular para as glândulas lacrimais, controla a produção de lágrima, de forma a manter um fluido estável na superfície ocular. Tem sido proposto que a tonicidade da película lacrimal é um dos principais estímulos para este feedback de regulação. Na doença do olho seco, a disfunção do aparelho de produção (as várias glândulas), o sistema de drenagem, o mecanismo de sinalização neural, ou a própria superfície ocular conduz a uma película lacrimal inadequada, a um comprometimento da superfície ocular e a um desconforto subjetivo.

A nível celular, a doença do olho seco é normalmente caracterizada por um ambiente extracelular (película lacrimal) cronicamente hipertónica. Os relatórios publicados sobre a tonicidade da película lacrimal de pacientes com olho seco apresentam uma variação de 300 a 500 mOsmol/kg, com a maioria dos valores entre 320 e 400 mOsmol/kg. Nestas condições, as células tendem a perder água e/ou a obter sais, e podem sofrer alterações de volume celular. Tem sido mostrado que a hipertonicidade altera os processos metabólicos celulares, reduz o funcionamento dos processos enzimáticos, e conduz à apoptose e morte celular.

Como defesa contra os desafios hipertónicos, foi demonstrado que as células da córnea regulam de forma positiva os mecanismos de transporte para os solutos não iónicos, tais como aminoácidos e polióis, e acumulam a nível intracelular estes solutos, de forma a manter o volume da célula sem alterar o equilíbrio electrolítico. Nestas condições, o metabolismo celular é menos afectado do que com alterações de volume e de electrólitos, e tais compostos são definidos como solutos compatíveis. Os solutos compatíveis incluem, mas não são limitados aos aminoácidos betaína (trimetilglicina), taurina, glicina e prolina e aos polióis glicerol, eritritol, xilitol, sorbitol, e manitol. Os solutos compatíveis também são considerados osmoprotetores, uma vez que podem permitir o metabolismo celular ou aumentar a sobrevivência celular em condições hipertónicas que de outra forma seriam restritivas.

As células acumulam certos solutos compatíveis por biossíntese dentro da célula e outros por aumento do transporte transmembranar do fluido extracelular (neste caso, o fluido lacrimal). Em ambos os casos, proteínas

específicas sintéticas ou de transporte estão envolvidos neste processo. Os resultados experimentais indicam que estas proteínas são ativadas na presença de condições hipertónicas, e que os eventos de transcrição e de tradução para produzir estas proteínas são regulados de forma positiva pelas condições hipertónicas. Por outro lado, os resultados experimentais indicam que as células da córnea e outras células irão expelir os solutos compatíveis quando expostas a condições hipotónicas, ou quando se deslocam de um ambiente hipertónico para um ambiente isotónico.

Na doença do olho seco, as células da superfície da córnea estão expostas a um ambiente hipertónico, e são estimuladas a acumular substâncias osmoprotetoras que estejam disponíveis. A adição de uma lágrima artificial iso- ou hipo- tónica à superfície ocular, proporciona alívio dos sintomas devido a um aumento da lubrificação, mas tende a regular negativamente os mecanismos destas células para a acumulação de osmoprotetores. Isto pode resultar numa maior vulnerabilidade ao insulto osmótico nos minutos ou horas que se seguem ao uso da gota, à medida que a película lacrimal regressa ao seu estado hipertónico de olho seco.

As orientações atuais da FDA estipulam que "uma solução oftálmica deve ter uma equivalência osmótica entre 0.8 e 1.0 por cento de cloreto de sódio para cumprir as reivindicações de rótulo de 'solução isotónica'". Isto é equivalente a um intervalo de 274 a 342 mOsmol/kg. Além disso, as diretrizes da FDA afirmam que "dois a 5 por cento das preparações oftálmicas de cloreto de sódio são hipertónicas e são produtos OTC aceitáveis quando rotuladas como 'solução hipertónica'". Este intervalo equivale a 684 a 1711 mOsmol/kg. Para os fins da presente invenção, uma solução "supra-tónica" é definida por ter uma osmolalidade

intermédia entre estes dois intervalos, ou aproximadamente de 300 ou 310 a 600 ou 800 ou 1000 mOsmol/kg, equivalente a cerca de 0.9 até cerca de 1.8 por cento de cloreto de sódio (1.8% é a diretriz máxima da FDA para soluções oftálmicas tópicas não rotulados como hipertónicas).

A presente invenção tem em consideração estes conceitos através da formulação de uma lágrima artificial a níveis supra-tónicos mais compatíveis com o estado hipertónico existente na superfície ocular do olho seco. Além de serem formuladas no intervalo supra-tónico (de 300 ou 310 a 600 ou 1000 mOsmol/kg de tonicidade total), as presentes composições contêm um ou mais agentes orgânicos de soluto compatíveis, tal como aqui descrito. A combinação da supra-tonicidade e da inclusão de um ou mais solutos compatíveis nas presentes composições serve para estimular ou manter a absorção destas substâncias protetoras para as células da superfície da córnea, e para proporcionar um fornecimento abundante destes materiais ou substâncias.

Para além duma quantidade suficiente de solutos compatíveis num meio supra-tónico, as presentes composições também podem conter agentes demulcentes e de viscosidade adequados, que proporcionam conforto e lubrificação, e também são, vantajosamente, eficazes na manutenção da composição de soluto orgânico compatível na superfície ocular, durante tempo suficiente para aumentar a sua absorção pelas células da superfície da córnea.

Deve ser tido em consideração que, as diretrizes da FDA indicam claramente que a tonicidade final da formulação pode ser determinada por espécies não iónicas ou iónicas. Deste modo, a fórmula pode conter quantidades significativas de glicerol e de outros solutos compatíveis, e não conter quantidades substanciais ou qualquer um dos

agentes de tonicidade iónicos, tais como sais de sódio. Numa forma de realização, os presentes componentes são praticamente isentos de agentes de tonicidade iónicos.

De forma vantajosa, as presentes composições incluem uma combinação de diferentes agentes de solutos orgânicos compatíveis eficazes a proporcionar a absorção, pelas células da córnea, durante o tempo de exposição à gota durante o uso, por exemplo, de cerca de 5 a cerca de 30 minutos após a administração, dependendo da viscosidade, e a proporcionar a retenção intracelular durante o período de horas entre as aplicações das gotas.

Devido ao aumento da proteção contra o insulto osmótico proporcionado pela presente composição, a duração dos benefícios clínicos resultantes de cada dose ou aplicação é aumentada. Com o uso regular das presentes composições, a saúde da superfície ocular é melhorada, já que as células são menos desafiadas a nível metabólico e a sobrevivência celular é reforçada.

Num outro aspecto da presente invenção, são proporcionadas composições que compreendem um componente transportador e um componente polianiónico. Tais composições contendo componentes polianiónicos incluem componentes de solutos orgânicos compatíveis, tal como aqui descrito.

Numa forma de realização, são fornecidas composições que compreendem um componente transportador e um componente polianiónico numa quantidade eficaz para tratar uma superfície ocular de um olho com uma condição de aumento da população de espécies catiónicas, por exemplo e sem limitações, o aumento da proteína básica principal (MBP), e/ou diminuição das espécies polianiónicas na superfície ocular. Numa forma de realização, as presentes composições

oftálmicas incluem componentes polianiónicos presentes em quantidades eficazes para reduzir pelo menos um efeito adverso de um material catiónico, por exemplo, um material policatiónico, numa superfície ocular, quando as composições são administradas a olhos humanos ou animais, em relação a uma composição idêntica sem o componente polianiónico.

Numa forma de realização útil, as composições que compreendem os componentes polianiónicos, por exemplo, com ou sem os componentes de soluto compatíveis, podem ser eficazmente utilizadas antes, durante e/ou depois de procedimentos cirúrgicos, incluindo sem limitações, procedimentos cirúrgicos em que o olho é exposto a energia laser, por exemplo, no tratamento de coloração, secura e outras complicações da superfície ocular pós LASIK. A etiologia do compromisso da superfície pós-LASIK pode ser multifatorial, incluindo, sem limitações, hipoestesia neurotrófica e queratite induzida cirurgicamente, lesões nas células límbicas pela força do anel de sucção, alterações da aposição das pálpebras devido a alterações na topografia de córnea, lesões químicas na superfície ocular por medicações tópicas e conservantes ou semelhantes.

A administração de composições contendo componentes polianiónicos, de acordo com a presente invenção, na superfície ocular e na película lacrimal, pode ser eficaz no tratamento de uma ou mais, ou mesmo todas as causas acima mencionadas de compromisso da superfície ocular pós LASIK.

Numa forma de realização particularmente útil, as presentes composições incluem componentes polianiónicos que mimetizam a atividade, por exemplo, a atividade antigénica e/ou citotóxica, da peça pró MBP que consiste num polipéptido

com 90 resíduos. Os agentes úteis podem incluir um ou mais análogos polipeptídicos desta sequência ou porções desta sequência.

Como aqui usado, o termo "mimetiza" significa que o componente polianiónico, por exemplo, um análogo polipeptídico, tem uma atividade dentro (mais ou menos) de cerca de 5% ou cerca de 10% ou cerca de 15% ou cerca de 20% da atividade correspondente da peça pró MBP.

A peça pró MBP tem uma sequência de aminoácidos como mostrado na SEQ ID NO: 1 abaixo:

```
lhhrsetstf etplgaktlp edeetpeqem eetpcrelee eeewgsgsed  
askkdgaves isvpdmvdkn ltcpeedtv kvvgipgcq
```

Um análogo polipeptídico da sequência da peça da pró-proteína básica principal ou de uma porção da sequência da peça da pró-proteína básica principal significa um péptido que compreende uma sequência de aminoácidos com, pelo menos, cerca de 75% ou cerca de 80% ou cerca de 85% ou cerca de 90 % ou cerca de 95% ou cerca de 99% ou mais de semelhança com uma sequência de aminoácidos contínua homóloga contida na SEQ ID NO: 1, ou partes da mesma.

Polímeros de açúcares substituídos com carboximetilo, por exemplo e sem limitações, a glicose e açúcares semelhantes, podem ser usados como componentes polianiónicos de acordo com a presente invenção.

Além disso, os componentes polianiónicos úteis adicionais incluem, sem limitações, hidratos de carbono modificados, outros polímeros polianiónicos, por exemplo, e sem limitações, os que já estão disponíveis para uso farmacêutico, e misturas dos mesmos. Podem ser usadas

misturas de um ou mais dos análogos polipeptídicos acima referidos e de um ou mais dos outros componentes polianiónicos acima mencionados.

As presentes composições são, de forma vantajosa, aceitáveis do ponto de vista oftálmico, compreendendo um componente transportador aceitável do ponto de vista oftálmico, um componente de soluto compatível e/ou um componente polianiónico.

Uma composição, um componente transportador ou outro componente ou material é "aceitável do ponto de vista oftálmico", quando é compatível com o tecido ocular, isto é, não causa efeitos prejudiciais significativos quando colocado em contacto com o tecido ocular. De preferência, o componente ou material aceitável do ponto de vista oftálmico, também é compatível com outros componentes das presentes composições.

Como aqui utilizado, o termo "componente polianiónico" refere-se a uma entidade química, por exemplo, uma espécie ionicamente carregada, tal como um material polimérico ionicamente carregado, que inclui mais do que uma carga aniónica discreta, ou seja, várias cargas aniónicas discretas. De preferência, o componente polianiónico é selecionado a partir dum grupo constituído por materiais poliméricos com cargas aniónicas múltiplas e misturas dos mesmos.

O componente polianiónico pode ter um peso molecular substancialmente constante ou uniforme, ou pode ser constituído por duas ou mais porções de componentes polianiónicos de diferentes pesos moleculares. As composições oftálmicas com componentes polianiónicos que incluem duas ou mais porções com diferentes pesos

moleculares, estão descritos no Pedido de Patente dos Estados Unidos No. de Série 10/017,817 depositado a 14 de Dezembro de 2001, cuja descrição é aqui incorporado na totalidade como referência.

Preferivelmente, a composição tem uma maior capacidade para aderir a um olho, em relação a uma composição substancialmente idêntica sem o componente polianiónico, quando a composição é administrada a um olho. No que diz respeito ao aumento da capacidade de adesão a uma característica do olho, observado acima, as presentes composições são, de preferência, eficientes a proporcionar uma lubrificação eficaz durante um período de tempo mais prolongado antes de exigir uma nova administração, relativamente a uma composição substancialmente idêntica sem o componente polianiónico.

Qualquer componente polianiónico adequado pode ser utilizado, de acordo com a presente invenção, desde que funcione como aqui descrito e não tenha nenhum efeito prejudicial significativo sobre a composição como um todo ou no olho ao qual a composição é administrada. O componente polianiónico é, preferencialmente, aceitável do ponto de vista oftálmico, nas concentrações utilizadas. O componente polianiónico inclui, de preferência, três (3) ou mais cargas aniónicas (ou negativas). No caso do componente polianiónico ser um material polimérico, prefere-se que muitas das unidades de repetição do material polimérico incluam uma carga aniónica discreta. Componentes aniónicos particularmente úteis são aqueles que são solúveis em água, por exemplo, solúveis nas concentrações utilizadas nas presentes composições, à temperatura ambiente (da sala).

Exemplos de componentes polianiónicos adequados, úteis nas presentes composições incluem, sem limitações, derivados de

celulose aniônicos, polímeros aniônicos contendo ácido acrílico, polímeros aniônicos contendo ácido metacrílico, polímeros aniônicos contendo aminoácidos e misturas dos mesmos. Os derivados de celulose aniônicos são muito úteis para a presente invenção.

Uma classe particularmente útil de componentes polianiónicos são um ou mais materiais poliméricos que têm cargas aniônicas múltiplas. Os exemplos incluem, mas não estão limitados a:

metais de carboximetilceluloses
metais de carboxi metilhidroxietilceluloses
metais de carboximetilamido
metais de carboxi metilhidroxietilamido
metais de carboximetilpropil Guar p
poliacrilamidas e poliacrilonitrilos hidrolisados
heparina
gucoaminoglicanos
ácido hialurónico
sulfato de condroitina
sulfato de dermatano
péptidos e polipéptidos
ácido algínico
metais de alginato
homopolímeros e copolímeros de um ou mais de:
ácidos acrílico e metacrílico
metais de acrilato e metacrilato
ácido vinilsulfónico
metais de vinilsufonato
aminoácidos como ácido aspártico, ácido glutâmico e semelhantes
sais metálicos de aminoácidos
ácido p-estirenosulfónico

metais de p-estirenosulfonato
ácidos 2-metacrilóiloxietilsulfónico
metais de 2-metacrilóiloxietilsulfonato
ácidos 3-metacrilóiloxi-2-hidroxi-propilsulfónico
metais de 3-metacrilóiloxi-2-hidroxi-propilsulfonato
ácidos 2-acrilamido-2-metilpropanosulfónico
metais de 2-acrilamido-2-metilpropanosulfonato
ácido alil-sulfónico
metais de alil-sulfonato e semelhantes.

São conseguidos excelentes resultados utilizando componentes polianiónicos seleccionados a partir de carboximetilceluloses e misturas das mesmas, por exemplo, de metal alcalino e/ou metais de carboximetilceluloses alcalino-terrosos.

As presentes composições são, de preferência soluções, embora possam ser usadas outras formas, tais como pomadas, géis, e outras semelhantes.

O componente de transporte é aceitável do ponto de vista oftálmico e pode incluir um ou mais componentes que são eficazes a proporcionar tal aceitabilidade oftálmica e/ou, pelo contrário, a beneficiar a composição e/ou o olho ao qual a composição é administrada e/ou o paciente cujo olho está a ser tratado. De forma vantajosa, o componente de transporte é de base aquosa compreendendo, por exemplo, uma grande quantidade, que é pelo menos cerca de 50% do peso, de água. Outros componentes que podem ser incluídos nos componentes de transporte incluem, sem limitações, componentes tampão, componentes de tonicidade, componentes conservantes, reguladores de pH, componentes normalmente encontrados em lágrimas artificiais, outros semelhantes e misturas dos mesmos.

As presentes composições têm, de preferência, viscosidades em excesso quando comparadas com a viscosidade da água. Numa forma de realização, a viscosidade das presentes composições é pelo menos cerca de 10 cps (centipoise), mais preferencialmente num intervalo de cerca de 10 cps a cerca de 500 cps ou cerca de 1000 cps. De forma vantajosa, a viscosidade da presente composição varia num intervalo de cerca de 15 cps ou cerca de 30 cps ou cerca de 70 cps a cerca de 150 cps ou cerca de 200 cps ou cerca de 300 cps ou cerca de 500 cps. A viscosidade da presente composição pode ser medida de qualquer maneira adequada, por exemplo, de forma convencional. Um viscosímetro de Brookfield convencional mede tais viscosidades.

Numa forma de realização muito útil, o componente polianiónico está presente numa quantidade que varia de cerca de 0.1% a cerca de 5%, de preferência de cerca de 0.2% a cerca de 2.5%, mais preferivelmente de cerca de 0.2% a cerca de 1.8% e ainda mais preferencialmente de cerca de 0.4 % até cerca de 1.3% (p/v) da composição.

Outros componentes que podem ser incluídos nos componentes de transporte incluem, sem limitações, componentes tampão, componentes de tonicidade, componentes conservantes, reguladores de pH, componentes normalmente encontrados em lágrimas artificiais, tais como um ou mais electrólitos, outros semelhantes e misturas dos mesmos. Numa forma de realização muito útil o componente de transporte inclui, pelo menos, um dos seguintes: uma quantidade eficaz de um componente tampão; uma quantidade eficaz de um componente de tonicidade; uma quantidade eficaz de um componente conservante; e água.

Estes componentes adicionais são, preferencialmente, aceitáveis do ponto de vista oftálmico e podem ser

escolhidos a partir de materiais que são convencionalmente utilizados em composições oftálmicas, por exemplo, as composições usadas para tratar olhos afectados com síndrome do olho seco, as formulações de lágrimas artificiais e outras semelhantes.

As concentrações eficazes aceitáveis para estes componentes adicionais, nas composições da presente invenção, são rapidamente evidentes para o perito na arte.

O componente de transporte inclui, de preferência, uma quantidade eficaz de um componente de ajuste de tonicidade para proporcionar à composição uma tonicidade desejada. O componente de transporte inclui, de preferência, um componente tampão, que está presente numa quantidade eficaz para manter o pH da composição num intervalo desejado. Entre os componentes de ajuste de tonicidade adequados que podem ser usados, estão aqueles que são convencionalmente utilizados em composições oftálmicas, tais como um ou mais sais inorgânicos e outros semelhantes. O cloreto de sódio, o cloreto de potássio, o manitol, a dextrose, a glicerina, o propileno-glicol, outros semelhantes e misturas dos mesmos, são componentes de ajuste de tonicidade muito úteis. Entre os componentes tampão ou agentes de tamponamento adequados que podem ser usados, estão aqueles que são convencionalmente utilizados em composições oftálmicas. Os sais tampão incluem metais alcalinos, metais alcalino-terrosos e/ou sais de amónio, bem como citrato, fosfato, borato, lactato, sais semelhantes e misturas dos mesmos. Tampões orgânicos convencionais, tais como tampão de Goode e semelhantes, podem também ser usados.

Qualquer componente conservante adequado pode ser incluído nas presentes composições desde que tais componentes sejam eficazes como conservantes na presença do componente

polianiónico. Assim, é importante que o componente conservante não seja substancialmente afectado pela presença do componente polianiónico. Naturalmente, o componente conservante escolhido depende de vários factores, por exemplo, o componente polianiónico específico presente, os outros componentes presentes na composição, etc. Exemplos de componentes conservantes úteis incluem, mas não estão limitados a, sais-per, tais como perboratos, percarbonatos e semelhantes; peróxidos, tais como concentrações muito baixas, por exemplo, cerca de 50 a cerca de 200 ppm (p/v) de peróxido de hidrogénio e semelhantes; álcoois, tais como álcool benzílico, clorobutanol e semelhantes; ácido sórbico e os seus sais aceitáveis do ponto de vista oftálmico, e misturas dos mesmos.

A quantidade de componente conservante incluído nas presentes composições que contêm tal componente varia ao longo dum intervalo relativamente amplo, dependendo, por exemplo, do componente conservante específico utilizado. A quantidade de tal componente está, de preferência, no intervalo de cerca de 0.000001% a cerca de 0,05% ou mais (p/v) da presente composição.

Uma classe particularmente útil de componentes conservantes é a classe dos precursores de dióxido de cloro. Exemplos específicos de precursores de dióxido de cloro incluem dióxido de cloro estabilizado (SCD), cloretos de metais, tais como metais alcalinos e cloretos de metais alcalino-terrosos, outros semelhantes e misturas dos mesmos. O cloreto de sódio de grau técnico é um precursor de dióxido de cloro muito útil. Complexos contendo dióxido de cloro, tais como complexos de dióxido de cloro com carbonato, dióxido de cloro com bicarbonato e misturas dos mesmos,

também estão incluídos como precursores de dióxido de cloro. A composição química exata de muitos precursores de dióxido de cloro, por exemplo, o SCD e os complexos de dióxido de cloro, não é completamente compreendida. O fabrico ou produção de certos precursores de dióxido de cloro é descrito por McNicholas na Patente dos Estados Unidos 3,278,447, aqui incorporada na totalidade como referência. Exemplos específicos de produtos úteis de SCD incluem o que é vendido sob a marca registada Purite⁷ pela Allergan, Inc., que é vendido sob a marca registada Dura Klor pela Rio Linda Chemical Company, Inc. e o que é vendido sob a marca registada Anthium Dioxide pela International Dioxide, Inc.

O precursor de dióxido de cloro é incluído nas presentes composições para preservar eficazmente as mesmas. Tais concentrações conservantes eficazes estão, preferencialmente, no intervalo de cerca de 0.0002 ou cerca de 0.002 a cerca de 0,02% (p/v) ou mais, das presentes composições.

No caso dos precursores de dióxido de cloro serem utilizados como componentes conservantes, as composições têm, de preferência, uma osmolalidade de pelo menos cerca de 200 mOsmol/kg e são tamponadas para manter o pH dentro dum intervalo fisiologicamente aceitável, por exemplo, um intervalo de cerca de 6 a cerca de 8 ou cerca de 10.

As presentes composições incluem, preferencialmente, uma quantidade eficaz de um componente electrólito, ou seja, um ou mais electrólitos, por exemplo, tal como é encontrado nas lágrimas naturais e formulações de lágrimas artificiais. Exemplos de tais electrólitos particularmente úteis a serem incluídos nas presentes composições incluem, sem limitações, sais de metais alcalino terrosos, tais como

sais inorgânicos de metais alcalino terrosos e misturas dos mesmos, por exemplo, sais de cálcio, sais de magnésio e misturas dos mesmos. São obtidos muito bons resultados usando um componente electrólito selecionado entre o cloreto de cálcio, o cloreto de magnésio e as suas misturas.

A quantidade ou concentração de tal componente electrólito nas presentes composições pode variar largamente e depende de vários factores, por exemplo, o componente electrólito específico a ser utilizado, a composição específica na qual o electrólito será incluído e factores semelhantes. Numa forma de realização útil, a quantidade de componente electrólito é escolhido para, pelo menos parcialmente, assemelhar-se a, ou mesmo assemelhar-se substancialmente, à concentração de electrólito nas lágrimas humanas naturais. De preferência, a concentração do componente electrólito varia num intervalo de cerca de 0.01 a cerca de 0.5 ou cerca de 1% da composição da presente invenção.

As presentes composições podem ser preparadas utilizando procedimentos e técnicas convencionais. Por exemplo, as presentes composições podem ser preparadas misturando os componentes, tal como numa massa.

Para ilustrar, numa forma de realização, as porções dos componentes polianiónicos são combinados com água purificada e estimulados a dispersar na água purificada, por exemplo, por mistura e/ou agitação. Os outros componentes, tais como o componente tampão, o componente de tonicidade, o componente electrólito, o componente conservante e outros semelhantes, são introduzidos à medida que a mistura continua. A mistura final é esterilizada, como por exemplo esterilizada a vapor, a temperaturas de pelo menos cerca de 100°C, tal como no intervalo de cerca

de 120°C a cerca de 130°C, durante um tempo de pelo menos cerca de 15 minutos ou pelo menos cerca de 30 minutos, tal como no intervalo de cerca de 45 a cerca de 60 minutos. Numa forma de realização, o componente conservante é, preferivelmente, adicionado à mistura após a esterilização. O produto final é de preferência filtrado, por exemplo, através de um filtro de cartucho de 20 micron esterilizado, tal como através de um cartucho de filtração de limpeza de 20 micron vendido, por exemplo, pela Pall sob o nome comercial de HDC II, para proporcionar uma solução límpida e suave, que é em seguida assepticamente colocada em recipientes, por exemplo, recipientes vedantes de polietileno de baixa densidade.

Alternativamente, cada uma das porções dos componentes polianiónicos pode ser misturada com água purificada para se obterem soluções de porções de componentes polianiónicos individuais. Ao misturar as soluções de porções de componentes polianiónicos individuais, é fácil e eficazmente obtida uma mistura, com a razão desejada e controlada das porções dos componentes polianiónicos individuais. A solução misturada pode então ser combinada com os outros componentes, esterilizada e colocada em recipientes, como mencionado acima.

Numa forma de realização particularmente útil, é obtida uma solução das porções dos componentes polianiónicos e água purificada, como mencionado acima. Esta solução é então esterilizada, por exemplo, como mencionado acima. Separadamente, os outros componentes a serem incluídos na composição final são dissolvidos em água purificada. Esta última solução é sujeita a filtração estéril, por exemplo, através de um filtro de esterilização de 0.2 microns, tal como o vendido pela Pall sob o nome comercial Suporflow,

para a solução contendo o componente polianiónico, para formar a solução final. A solução final é filtrada, por exemplo, como mencionado acima, para originar uma solução límpida e suave, que é depois assepticamente colocada em recipientes.

As presentes composições podem ser utilizadas de forma eficaz, conforme necessário, por métodos que compreendem a administração de uma quantidade eficaz da composição a um olho que necessite lubrificação, por exemplo, um olho afectado ou com propensão para desenvolver a síndrome do olho seco. A etapa de administração pode ser repetida conforme necessário, para proporcionar uma lubrificação eficaz a tal olho. O modo de administração da presente composição depende da forma da composição. Por exemplo, se a composição é uma solução, as gotas da composição podem ser aplicadas ao olho a partir, por exemplo, de um conta-gotas ocular convencional. De um modo geral, as presentes composições podem ser aplicadas à superfície do olho praticamente da mesma forma que as composições oftálmicas convencionais. A administração das presentes composições proporciona benefícios substanciais e inesperados, tal como descrito acima.

Os seguintes exemplos não limitativos ilustram certos aspetos da presente invenção.

EXEMPLO 1

Neste ensaio, as células epiteliais da córnea foram isoladas a partir de olhos de coelho e cultivadas em condições para que se diferenciem numa cultura "air-lift" de camadas que inclui células basais, poliédricas e escamosas. À medida que crescem e se diferenciam, estas culturas desenvolvem fortes junções entre as células que

proporcionam a base para uma resistência eléctrica trans-epitelial (TEER) ao longo das camadas celulares entre as superfícies apicais e basais. O valor da TEER é uma medida sensível do crescimento, diferenciação e de saúde celular.

Após 5 dias em cultura, durante o qual a estrutura em camadas forma diferentes poços de cultura, foram expostas a um fluido hipertónico (400 mOsmol/kg) com ou sem adição de um dos 6 solutos compatíveis candidatos, a uma concentração baixa (2 mM). A TEER foi então medida após 22 horas de exposição. O valor da TEER foi expresso como uma percentagem do valor da TEER obtido a partir de uma cultura semelhante em condições isotónicas (300 mOsmol/kg). Os resultados destes testes são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados dos testes

Soluto Compatível	TEER (como % do controlo isotónico) às 22 horas
Controlo Isotónico	100%
Controlo Hipertónico	23.3
Taurina a 2 mM	39.8
Bateína a 2 mM	53.3
Carnitina a 2 mM	118.9
Eritritol a 2 mM	107.4
Mio-inositol a 2 mM	74.8
Xilitol a 2 mM	94.1

Estes resultados demonstram que todos os candidatos testados têm alguma capacidade osmoprotetora, aumentando a TEER relativamente ao controlo hipertónico. Surpreendentemente, um dos agentes testados, a carnitina, produziu o maior benefício. Sem pretender limitar a invenção a qualquer teoria de funcionamento específica, acredita-se que os resultados benéficos obtidos com a carnitina podem estar relacionados com as várias funções da

carnitina no metabolismo da energia e outros mecanismos celulares, bem como os seus efeitos osmoprotetores.

Além disso, e também de forma inesperada, o eritritol originou os melhores resultados entre os polióis testados. O xilitol e mio-inositol originaram bons resultados.

Estes resultados indicam que cada um dos seis compostos candidatos, e de preferência, a carnitina, o eritritol, o xilitol e mio-inositol, pode ser útil em composições oftálmicas, por exemplo, para mitigar as condições hipertónicas em superfícies oculares dos olhos de humanos ou de animais.

Novamente sem se pretender limitar a invenção a qualquer teoria de funcionamento específica, acredita-se que, devido aos numerosos papéis que vários destes compostos podem desempenhar, combinações de dois ou mais destes compostos, por exemplo, incluindo pelo menos um polioli e pelo menos um aminoácido, provavelmente aumentam a proteção proporcionada às superfícies da córnea contra insultos, por exemplo, devido à dessecação e hiperosmolalidade, tal como ocorre na doença do olho seco.

EXEMPLO 2

A JNK fosforilada (forma ativada da proteína quinase associado ao stress, SAPK) desempenha um papel fundamental na indução da inflamação e apoptose em resposta ao stress, incluindo hiperosmolaridade.

Os tecidos humanos da córnea e da esclera, de doadores com idade entre 16-59 anos, foram obtidos do Lions Eye Bank of Texas (Houston, TX). As células epiteliais da córnea foram cultivadas a partir de explantes do limbo. De forma

resumida, após a remoção cuidadosa do centro da córnea, do endotélio em excesso da conjuntiva, da íris e da córnea, o anel limbal foi cortado em 12 pedaços iguais (cerca de 2x2 mm de tamanho de cada um). Duas destas peças foram colocadas com o lado epitelial virado para cima em cada poço das placas de cultura de 6 poços, e cada explante foi coberto com uma gota de soro fetal bovino (FBS) durante a noite. Os explantes foram então cultivados em meio SHEM, uma mistura de 1:1 de meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) e de meio Ham F-12 contendo 5 ng/ml de EGF, 5 mg/ml de insulina, 5 mg/ml de transferrina, 5 ng/ml de selenito de sódio, 0.5 mg/ml de hidrocortisona, 30 ng/ml de toxina A da cólera, 0.5% de DMSO, 50 mg/ml de gentamicina, 1.25 mg/ml de anfotericina B e 5% de FBS, a 37°C sob 5% de CO₂ e 95% de humidade. O meio foi renovado a cada 2-3 dias. O fenótipo epitelial destas culturas foi confirmado pela morfologia característica e pela coloração imuno-fluorescente com anticorpos de citoqueratina (AE-1/AE-3).

As placas de petri, as placas de poços, os tubos de centrífuga e outros utensílios de plástico de cultura celular, foram adquiridos à Becton Dickinson (Lincoln Park, NJ). O meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), o meio Ham F-12, a Fungizone, e a gentamicina foram adquiridos à Invitrogen-GIBCO BRL (Grand Island, NY). O soro fetal bovino (FBS) foi adquirido à Hyclone (Logan, UT).

Uma série de culturas epiteliais primárias sub-confluentes da córnea (cultivadas durante 12 a 14 dias, cerca de 4-5x10⁵ células/poço) foram lavadas três vezes com uma solução salina tamponada preservada (PBS) e mudadas para uma solução salina equilibrada de Earle (EBSS, 300 mOsm/kg) 24 horas antes do tratamento. As células epiteliais da córnea foram cultivadas durante 1 hora num volume igual

(2.0 ml/poço) de meios EBSS ou meios de 400 mOsm/kg, por adição de de 53mM de NaCl ou sacarose, tanto com sal interno de L-carnitina, hidrocloreto de betaína, eritritol ou xilitol (todos a uma concentração de 2 mM) que foram pré-adicionados 60 minutos antes da adição de NaCl ou sacarose. As amostras sem estes osmoprotetores também foram preparadas e testadas.

As células aderentes foram lisadas em tampão B Beadlyte® (incluído no kit tampão de sinalização celular Beadlyte®, Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY), contendo um comprimido de cocktail inibidor de proteases isento de EDTA (Roche Applied Science, Indianapolis, IN) durante 15 minutos. Os extractos celulares foram centrifugados a 12.000 x g durante 15 minutos à temperatura ambiente e os sobrenadantes foram armazenados a -80°C até serem analisados por análise de Western blot. As concentrações totais de proteínas dos extractos celulares foram determinadas utilizando um kit de ensaio de proteínas Micro BCA (Pierce, Rockford, IL).

A intensidade de cada uma das proteínas JNK1 e JNK2 foi testada para cada uma destas composições usando a análise Western blot com anticorpos específicos para cada espécie fosforilada.

A análise Western blot foi conduzida da seguinte forma. As amostras de proteína (50 mg por linha) foram misturadas com 6 X tampão redutor de amostra SDS e fervidas durante 5 minutos, antes do carregamento. As proteínas foram separadas por electroforese de SDS em gel de poli(acrilamida) (4-15% de Tris-HCl, géis de gradiente da Bio-Rad, Hercules, CA), e transferidas electronicamente para membranas de difluoreto de polivinilideno (PVDF) (Millipore, Bedford, MA). As membranas foram bloqueadas com 5% de leite magro em

TTBS (Tris a 50 mM, pH 7,5, NaCl a 0.9%, e Tween-20 a 0.1%) durante 1 hora à temperatura ambiente (TA), e, em seguida, foram incubadas durante 2 horas a TA com uma diluição 1:1000 de anticorpos de coelho contra a fosfo-MAPK p38 (Cell Signaling, Beverly, MA), uma diluição 1:100 de anticorpos de coelho contra a fosfo-JNK, ou uma diluição de 1:500 do anticorpo monoclonal contra fosfo44/ERK 42 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA).

Após três lavagens com TTBS, as membranas foram incubadas durante 1 hora à TA com a IgG de cabra anti-coelho de peroxidase de rábano conjugada com o anticorpo secundário (diluição 1:2000. Cell Signaling, Beverly, MA), ou IgG de cabra anti-rato (diluição 1:5000, Pierce, Rockford, IL). Após lavar as membranas quatro vezes, os sinais foram detectados com um reagente ECL de quimioluminescência avançado (Amersham, Piscataway, New Jersey) e as imagens foram adquiridas por uma Kodak Image Station 2000R (Eastman Kodak, New Haven, CT). As membranas foram retiradas em 62.5 mM de Tris-HCl, pH 6.8, contendo 2% de SDS e 100 mM de α -mercaptoetanol a 60°C, durante 30 minutos, e em seguida, foram novamente sondadas com uma diluição de 1:100 de anticorpos de coelho contra a JNK (Santa Cruz Biotechnology) ou uma diluição 1:1000 de anticorpos de coelho contra a ERK ou MAPK p38 (Cell Signaling). Estes três anticorpos detectam as formas fosforilada e não fosforilada que representam os níveis totais destas MAPKs. Os sinais foram detectados e capturados como descrito acima.

É determinado um nível de intensidade a partir da análise da imagem das bandas resultantes.

Os resultados dos testes são mostrados nas Figura 1 e 2.

Fazendo referência à Figura 1, não houve qualquer efeito sobre a ativação da JNK tanto com o eritritol como com o xilitol. No entanto, fazendo referência à Figura 2, houve uma clara diminuição dos níveis de JNK1 e JNK2 em culturas de L-carnitina e de betaína em comparação com os meios de 400 mOsm/kg sozinhos. Também houve um efeito menos robusto nas culturas de 300 mOsmol/kg.

EXEMPLO 3

Numa outra série de experiências, foi utilizado o Ensaio de sinalização celular Beadlyte®. Este ensaio é um imunoenensaio de sandwich de base fluorescente. Cada amostra (10 mg/25 ml) foi pipetada para um poço de uma placa de 96 poços e incubada com 25 ml duma diluição de 5 X grânulos acoplados com fosfo-JNK, fosfo-ERK, fosfo-p38 ou JNK total ou ERK total, ou total de anticorpos específicos de captura p38 durante a noite. Incubação durante a noite foi utilizada para a reação dos grânulos de captura com as proteínas dos lisados celulares.

Os grânulos foram lavados e misturados com anticorpos marcadores biotinilados específicos para fosfo-MAPK ou total MAPK, seguido por estreptavidina-ficoeritrina. A quantidade total ou de fosfo-MAPK foi então quantificada pelo sistema Luminex 100™ (Luminex, Austin, Texas). Foram lidos cinquenta eventos por grânulo, e os dados de saída obtidos a partir do software BioPlex Manager foram exportados para o Microsoft Excel para posterior análise. Os resultados foram apresentados como a percentagem de fosfo-MAPK em relação ao total de MAPK.

Os resultados destes testes são mostrados nas Figuras 3, 4 e 5.

Como mostrado na Figura 3, todos os materiais candidatos, ou seja, o eritritol, xilitol, L-carnitina e betaína, reduziram a quantidade de fosfo-JNK total relativamente ao controlo hipertónico.

Fazendo referência à Figura 4, todos os materiais candidatos, com a exceção da betaína, reduziram a quantidade de fosfo-p 38 total em relação ao controlo hipertónico.

Como mostrado na Figura 5, os materiais candidatos de poliol, ou seja, o eritritol e o xilitol, reduziram a quantidade de ERK em relação ao controlo hipertónico. Os aminoácidos, betaína e carnitina não.

EXEMPLO 4

Exemplo 1 é repetido, no entanto são usadas diferentes concentrações de cada um dos materiais candidatos e a TEER é medida a vários tempos entre as 0 e as 24 horas.

Os resultados destes testes são apresentados na Figura 6. Tal como no Exemplo 1, a variável TEER é representada como uma % de TEER em relação ao controlo isotónico.

Estes resultados demonstram que foi observada uma resposta relacionada com a dose para a L-carnitina, a betaína e o eritritol.

Uma composição que inclui betaína e dióxido de cloro estabilizado como conservante foi testada em relação à compatibilidade do componente. Verificou-se que a betaína não era completamente compatível em tal composição. Assim, a betaína não é útil com certos conservantes, tais como o dióxido de cloro estabilizado. No entanto, a betaína pode

ser vantajosamente utilizada como soluto compatível em composições oftálmicas que utilizem outros sistemas de conservação, ou que estejam isentas de conservantes, por exemplo, em aplicações únicas ou de dose unitária.

EXEMPLO 5

O Exemplo 4 é repetido, no entanto foram usadas composições que incluem solutos compatíveis. Composições que incluem apenas glicerol como soluto compatível também foram testadas.

Os resultados dos testes são mostrados nas Figuras 7 e 8.

Estes resultados dos testes demonstram que combinações de solutos compatíveis diferentes podem, potencialmente, trazer benefícios adicionais.

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 6

Mostrou-se que a peça da pró-proteína básica principal (MBP) é um polipéptido de 90 resíduos.

Usando técnicas estabelecidas e bem conhecidas, é produzido um análogo polipeptídico da sequência deste polipéptido de 90 resíduos.

Uma composição oftálmica é preparada misturando os seguintes componentes:

	% de Concentração (p/v)
análogo polipeptídico acima mencionado	0.5%
Glicerol	1.0%
Eritritol	0.5%
Ácido bórico	0.65
Borato de sódio	0.25
Citrato de sódio	0.1
Cloreto de potássio	0.01
Purite® ⁽¹⁾	0.01
Hidróxido de sódio 1N	ajustar o pH para 7.2
Ácido clorídrico 1N	ajustar o pH para 7.2
Água purificada	q.s. ad.

(1) Purite® é uma marca registada da Allergan, Inc. de dióxido de cloro estabilizado. Este material é adicionado à mistura após a esterilização por calor

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 7

A composição do Exemplo 6, sob a forma de gotas para os olhos, é administrada ao olho de um paciente humano prestes a ser submetido a um procedimento cirúrgico em que o olho é exposto à energia laser, em particular, um procedimento cirúrgico LASIK.

Após o procedimento cirúrgico, o paciente apresenta dor reduzida e/ou desconforto reduzido e/ou irritação ocular reduzida e/ou uma recuperação mais rápida do procedimento cirúrgico, quando comparado com o facto ser submetido a um procedimento cirúrgico idêntico, incluindo sendo administrada a mesma composição, sem o análogo polipeptídico.

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 8

A composição do Exemplo 6, sob a forma de gotas para os olhos, é administrada ao olho de um paciente humano que

está a ser submetido a um procedimento cirúrgico em que o olho é exposto à energia laser, em particular, um procedimento cirúrgico de LASIK.

Após o procedimento cirúrgico, o paciente apresenta dor reduzida e/ou desconforto reduzido e/ou irritação ocular reduzida e/ou uma recuperação mais rápida do procedimento cirúrgico, quando comparado com o facto ser submetido a um procedimento cirúrgico idêntico, incluindo sendo administrada a mesma composição, sem o análogo polipeptídico.

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 9

A composição do Exemplo 6, sob a forma de gotas para os olhos, é administrada ao olho de um paciente humano imediatamente após ser submetido a um procedimento cirúrgico em que o olho é exposto à energia laser, em particular, um procedimento cirúrgico de LASIK.

O paciente apresenta dor reduzida e/ou desconforto reduzido e/ou irritação ocular reduzida e/ou uma recuperação mais rápida do procedimento cirúrgico, quando comparado com o facto ser submetido a um procedimento cirúrgico idêntico, incluindo sendo administrada a mesma composição, sem o análogo polipeptídico.

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 10

Quatro formulações oftálmicas são preparadas por mistura dos vários componentes (mostrados na tabela a seguir).

Ingrediente	% de Concentração (p/v)			
	A	B	C	D
Carboximetilcelulose (CMC)	1.0	-	-	0.5
Glicerol	0.5	0.5	-	0.5
Eritritol	0.25	0.25	0.75	0.75
Ácido bórico	0.60	0.60	0.60	0.60
Borato de sódio decahidratado	0.045	0.045	0.045	0.045
Cloreto de cálcio dihidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Cloreto de potássio hexahidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Purite® (1)	0.0075	0.0075	0.075	0.075
Hidróxido de sódio 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Ácido clorídrico 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Água purificada	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.

(1) Purite® é uma marca registrada da Allergan, Inc. de dióxido de cloro estabilizado. Este material é adicionado à mistura após a esterilização por calor

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 11

O procedimento do Exemplo 10 é repetido para proporcionar as seguintes composições.

Ingrediente	% de Concentração (p/v)			
	A	B	C	D
Carboximetilcelulose (CMC)	1.0	-	-	0.5
Glicerol	0.5	0.5	-	0.5
Xilitol	0.25	0.25	0.75	0.75
Ácido bórico	0.60	0.60	0.60	0.60
Borato de sódio decahidratado	0.045	0.045	0.045	0.045
Cloreto de cálcio dihidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Cloreto de potássio hexahidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Purite® (1)	0.0075	0.0075	0.075	0.075
Hidróxido de sódio 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Ácido clorídrico 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Água purificada	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.

(1) Purite® é uma marca registrada da Allergan, Inc. de dióxido de cloro estabilizado. Este material é adicionado à mistura após a esterilização por calor

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 12

O procedimento do Exemplo 10 é repetido para proporcionar as seguintes composições.

Ingrediente	% de Concentração (p/v)			
	A	B	C	D
Carboximetilcelulose (CMC)	1.0	-	-	0.5
Glicerol	0.5	0.5	-	0.5
Mio-inositol	0.25	0.25	0.75	0.75
Ácido bórico	0.60	0.60	0.60	0.60
Borato de sódio decahidratado	0.045	0.045	0.045	0.045
Cloreto de cálcio dihidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Cloreto de potássio hexahidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Purite® (1)	0.0075	0.0075	0.075	0.075
Hidróxido de sódio 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Ácido clorídrico 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Água purificada	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.

(1) Purite® é uma marca registrada da Allergan, Inc. de dióxido de cloro estabilizado. Este material é adicionado à mistura após a esterilização por calor.

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 13

O procedimento do Exemplo 10 é repetido para proporcionar as seguintes composições.

Ingrediente	% de Concentração (p/v)			
	A	B	C	D
Carboximetilcelulose (CMC)	1.0	-	-	0.5
Glicerol	0.5	0.5	-	0.5
Carnitina	0.25	0.25	0.75	0.75
Ácido bórico	0.60	0.60	0.60	0.60
Borato de sódio decahidratado	0.045	0.045	0.045	0.045
Cloreto de cálcio dihidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Cloreto de potássio hexahidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Purite® (1)	0.0075	0.0075	0.075	0.075
Hidróxido de sódio 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Ácido clorídrico 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Água purificada	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.

(1) Purite® é uma marca registrada da Allergan, Inc. de dióxido de cloro estabilizado. Este material é adicionado à mistura após a esterilização por calor.

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 14

O procedimento do Exemplo 10 é repetido para proporcionar as seguintes composições.

Ingrediente	% de Concentração (p/v)			
	A	B	C	D
Carboximetilcelulose (CMC)	1.0	-	-	0.5
Glicerol	0.5	0.5	-	0.5
Taurina	0.25	0.25	0.75	0.75
Ácido bórico	0.60	0.60	0.60	0.60
Borato de sódio decahidratado	0.045	0.045	0.045	0.045
Cloreto de cálcio dihidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Cloreto de potássio hexahidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Purite® (1)	0.0075	0.0075	0.075	0.075
Hidróxido de sódio 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Ácido clorídrico 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Água purificada	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.

(1) Purite® é uma marca registrada da Allergan, Inc. de dióxido de cloro estabilizado. Este material é adicionado à mistura após a esterilização por calor.

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 15

O procedimento do Exemplo 10 é repetido para proporcionar as seguintes composições.

Ingrediente	% de Concentração (p/v)			
	A	B	C	D
Carboximetilcelulose (CMC)	1.0	-	-	0.5
Glicerol	0.5	0.5	-	0.5
Betaina ⁽²⁾	0.25	0.25	0.75	0.75
Ácido bórico	0.60	0.60	0.60	0.60
Borato de sódio decahidratado	0.045	0.045	0.045	0.045
Clorato de cálcio dihidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Clorato de potássio hexahidratado	0.006	0.006	0.006	0.006
Purite® ⁽¹⁾	0.0075	0.0075	0.075	0.075
Hidróxido de sódio 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Ácido clorídrico 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Água purificada	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.

(1) Purite® é uma marca registrada da Allergan, Inc. de dióxido de cloro estabilizado. Este material é adicionado à mistura após a esterilização por calor.

(2) Foi descoberto que a Betaina é incompatível com o conservante Purite®. Como tal, não foi usado nenhum conservante. Estas composições são úteis em aplicações únicas ou de dose unitária.

EXEMPLO 16

O procedimento do Exemplo 10 é repetido para proporcionar as seguintes composições.

<u>Ingrediente</u>	<u>% de Concentração (p/v)</u>			
	<u>A</u>	<u>B*</u>	<u>C</u>	<u>D*</u>
Carboximetilcelulose (CMC)	0.5	-	0.5 ⁽³⁾	-
Glicerol	0.9	0.9	0.9	0.9
Eritritol	0.5	0.5	0.25	0.25
Carnitina HCL	0.1	0.25	0.1	0.25
Ácido bórico	0.45	0.45	0.45	0.45
Borato de sódio	0.46	0.46	0.46	0.46
Citrato de sódio	0.1	0.1	0.1	0.1
Cloreto de potássio	0.14	0.14	0.14	0.14
Cloreto de cálcio	0.006	0.006	0.006	0.006
Cloreto de magnésio	0.006	0.006	0.006	0.006
Purite® (1)	0.01	0.01	0.01	0.01
Hidróxido de sódio 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Ácido clorídrico 1N	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2	ajustar o pH para 7.2
Água purificada	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.	q.s. ad.

*: amostra de referência

(1) Purite® é uma marca registrada da Allergan, Inc. de dióxido de cloro estabilizado. Este material é adicionado à mistura após a esterilização por calor.

(3) Uma mistura de 10% por peso de carboximetilcelulose de elevado peso molecular com um peso molecular médio de cerca de 700,000 e de 90% por peso de carboximetilcelulose de peso molecular médio com um peso molecular médio de cerca de 250,000.

EXEMPLO 17

Cada uma das composições produzidas nos Exemplos de 10 a 16, sob a forma de gotas para os olhos, é administrada uma vez por dia ou mais frequentemente, nos olhos de um paciente que sofre de síndrome do olho seco. A administração pode ser realizada em resposta ou em antecipação à exposição a condições ambientais adversas, por exemplo, ambientes secos ou ventoso, baixa humidade, utilização prolongada de computador, e outras semelhantes.

Tal administração é substancialmente semelhante à que é usada com composições de lágrima artificial convencionais.

Todos os pacientes, após uma semana de administração, apresentam um alívio substancial, por exemplo, em termos de uma redução da dor e/ou redução da irritação e/ou melhorias na visão e/ou melhoria na aparência do olho, dos efeitos ou sintomas da síndrome do olho seco. Além disso, esses pacientes, a quem são administradas as composições que incluem carboximetilcelulose (CMC) beneficiaram do carácter aniónico do CMC e das viscosidades relativamente aumentadas de tais composições. Tais benefícios incluem, sem limitações, redução da irritação por períodos de tempo mais prolongados após a administração, e/ou melhor lubrificação do olho e/ou melhor proteção contra os efeitos adversos das espécies catiónicas nas superfícies oculares dos olhos do paciente.

EXEMPLO 18

Cada uma das composições produzidas nos Exemplos de 10 a 16, sob a forma de gotas para os olhos, que incluem carboximetilcelulose (CMC), é administrada a um olho de um paciente humano diferente prestes a ser submetido a um procedimento cirúrgico LASIK.

Após o procedimento cirúrgico, cada um dos pacientes apresentou redução da dor e/ou redução do desconforto e/ou redução da irritação ocular e/ou uma recuperação mais rápida do procedimento cirúrgico, quando comparado com o facto de ser submetido a um procedimento cirúrgico idêntico, incluindo a administração da mesma composição, sem a carboximetilcelulose.

EXEMPLO 19

Cada uma das composições produzidas nos Exemplos de 10 a 16, sob a forma de gotas para os olhos, que incluem carboximetilcelulose (CMC), é administrada a um olho de um paciente humano diferente que está a ser submetido a um procedimento cirúrgico LASIK.

Após o procedimento cirúrgico, cada um dos pacientes apresentou redução da dor e/ou redução do desconforto e/ou redução da irritação ocular e/ou uma recuperação mais rápida do procedimento cirúrgico, quando comparado com o facto de ser submetido a um procedimento cirúrgico idêntico, incluindo a administração da mesma composição, sem a carboximetilcelulose.

EXEMPLO 20

Cada uma das composições produzidas nos Exemplos de 10 a 16, sob a forma de gotas para os olhos, que incluem carboximetilcelulose (CMC), é administrada a um olho de um paciente humano diferente imediatamente após ser submetido a um procedimento cirúrgico LASIK.

Cada um dos pacientes apresentou redução da dor e/ou redução do desconforto e/ou redução da irritação ocular e/ou uma recuperação mais rápida do procedimento cirúrgico, quando comparado com o facto de ser submetido a um procedimento cirúrgico idêntico, incluindo a administração da mesma composição, sem a carboximetilcelulose.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

<110> Allergan, Inc.

Vehige, Joseph

Simmons, Peter

Chang-Lin, Joan-En

<120> COMPOSIÇÕES OFTÁLMICAS E MÉTODOS PARA TRATAMENTO DOS OLHOS

<130> 17584 PCT (AP)

<160> 1 <170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 89

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<300>

<301> Popken-Harris, P., et al.

<302> Regulação e processamento de uma forma precursora de grânulos eosinofílicos da proteína básica principal (ProMBP) em eosinófilos em diferenciação

<303> sangue

<304> 92

<305> 2

<306> 623-631

<307> 1998-07-15

<400> 1

```

Leu His Leu Arg Ser Glu Thr Ser Thr Phe Glu Thr Pro Leu Gly Ala
1 5 10 15
Lys Thr Leu Pro Glu Asp Glu Glu Thr Pro Glu Gln Glu Met Glu Glu
20 25 30
Thr Pro Cys Arg Glu Leu Glu Glu Glu Glu Glu Trp Gly Ser Gly Ser
35 40 45
Glu Asp Ala Ser Lys Lys Asp Gly Ala Val Glu Ser Ile Ser Val Pro
50 55 60
Asp Met Val Asp Lys Asn Leu Thr Cys Pro Glu Glu Glu Asp Thr Val
65 70 75 80
Lys Val Val Gly Ile Pro Gly Cys Gln
85

```

REIVINDICAÇÕES

1. Uma composição oftálmica que compreende: um componente aquoso de transporte; um componente de tonicidade com eritritol e carnitina; e um componente polianiónico com carboximetilcelulose; em que a osmolalidade da composição está no intervalo supra-tónico de 300 a 1000 mOsmol/kg.
2. A composição da reivindicação 1 tem uma osmolalidade num intervalo de 300 a 600 mOsmol/kg.
3. Na composição da reivindicação 1 ou 2, o componente de soluto compatível está presente numa quantidade, num intervalo de 0.01% (p/v) a 3% (p/v) da composição e o componente polianiónico está presente numa quantidade, num intervalo de 0.1% (p/v) a 10% (p/v) da composição.
4. Uma composição oftálmica, de acordo com as reivindicações de 1 a 3, para uso em medicina.
5. Uma composição oftálmica, de acordo com as reivindicações de 1 a 3, para uso num método de tratamento da síndrome do olho seco ou durante e/ou após procedimentos cirúrgicos.

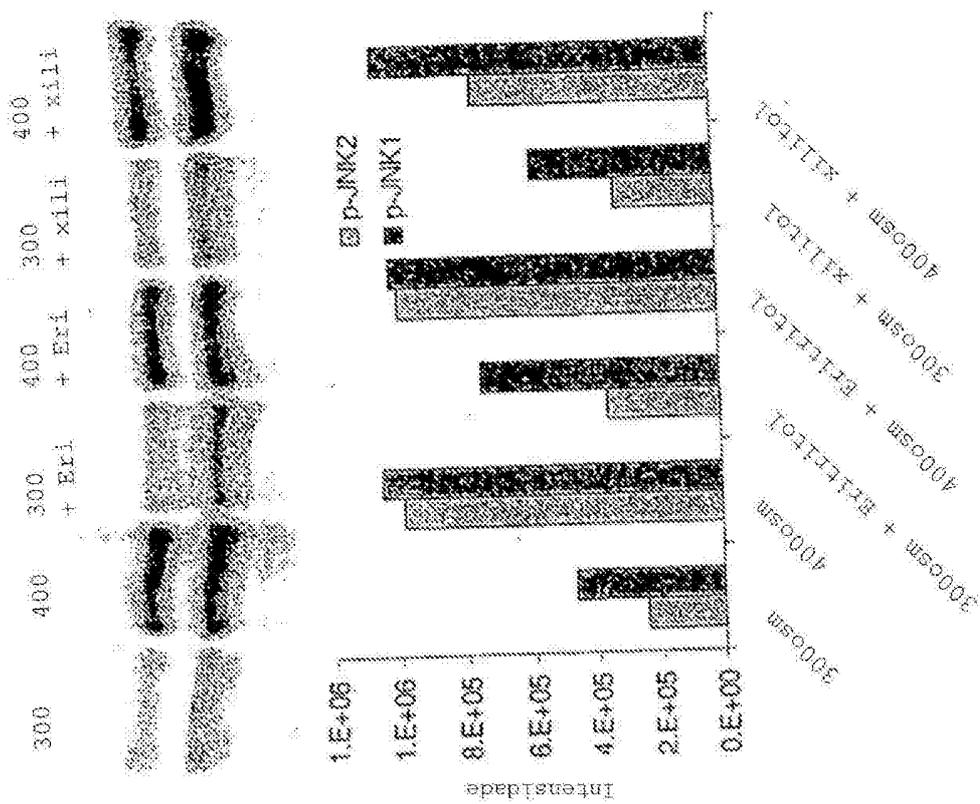


Figura 1

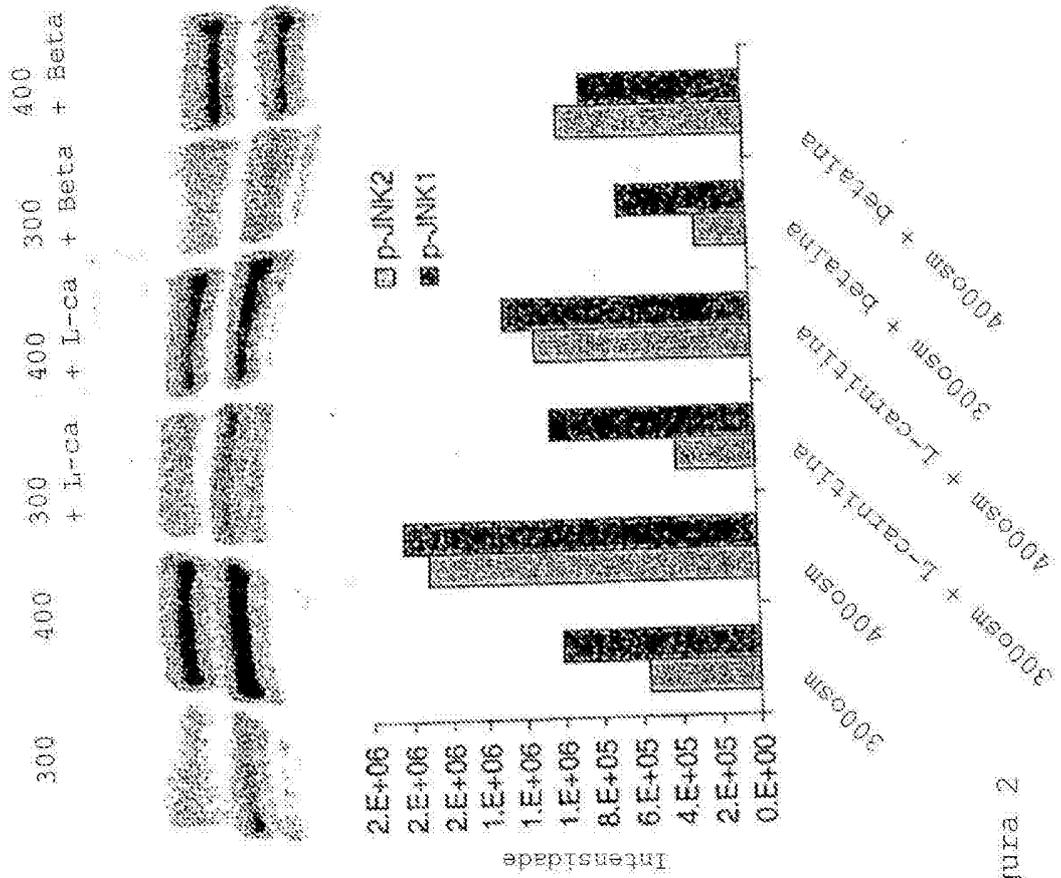


Figura 2

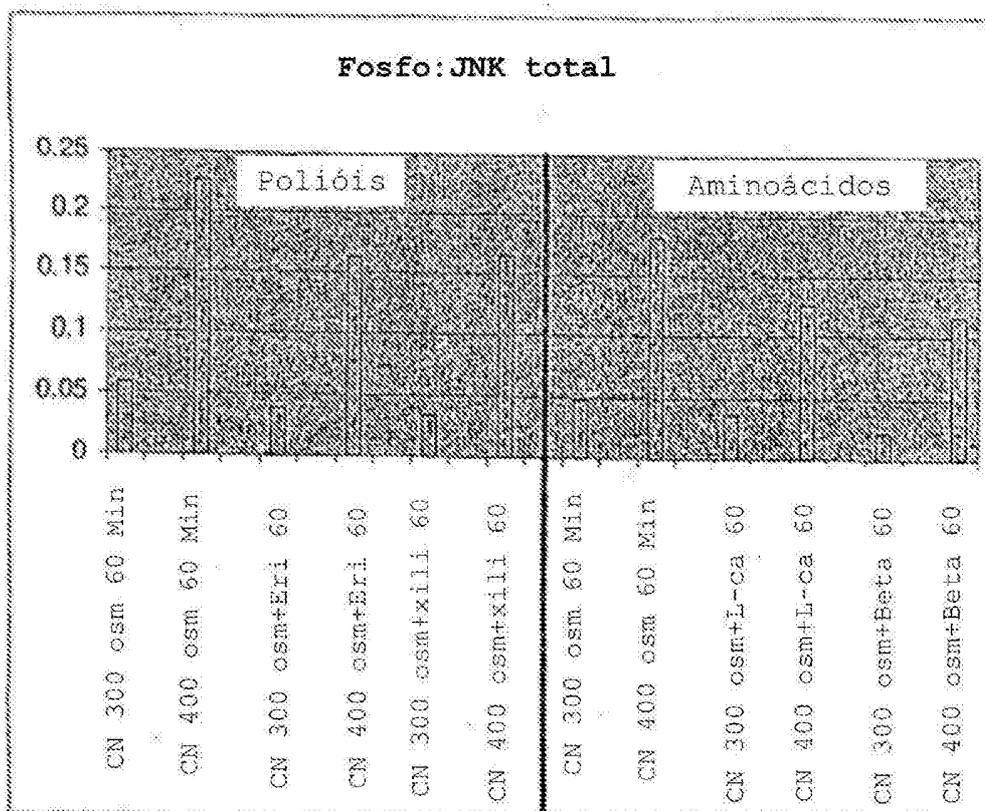


Figura 3

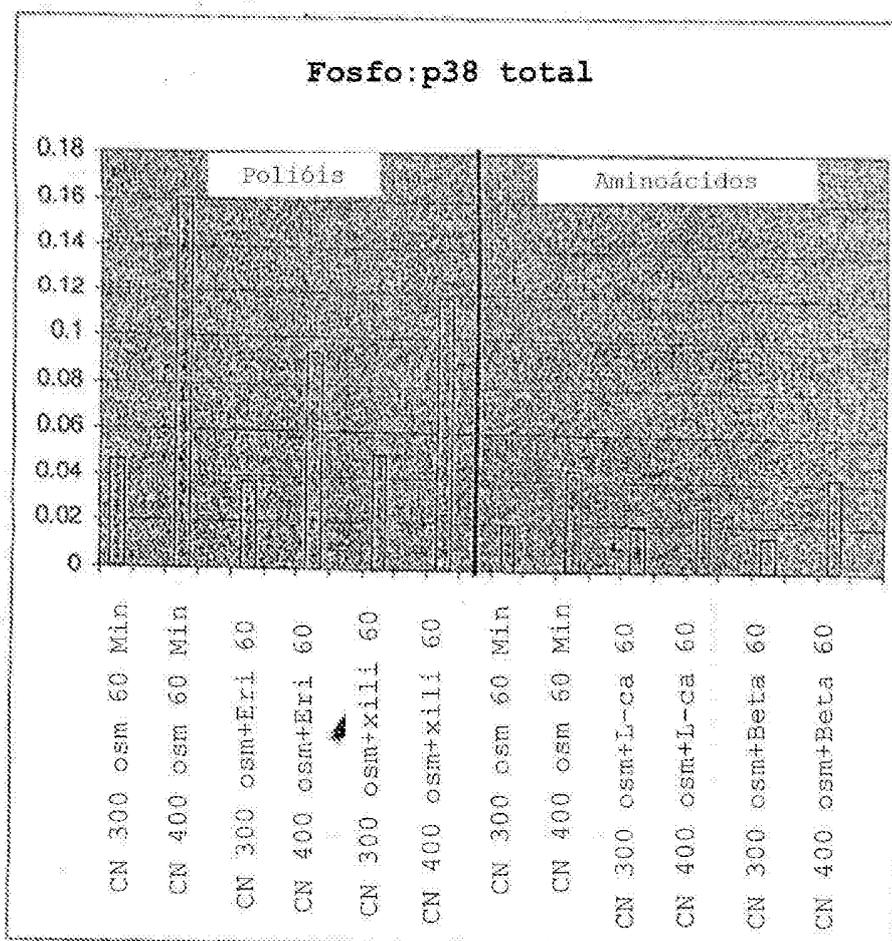


Figura 4

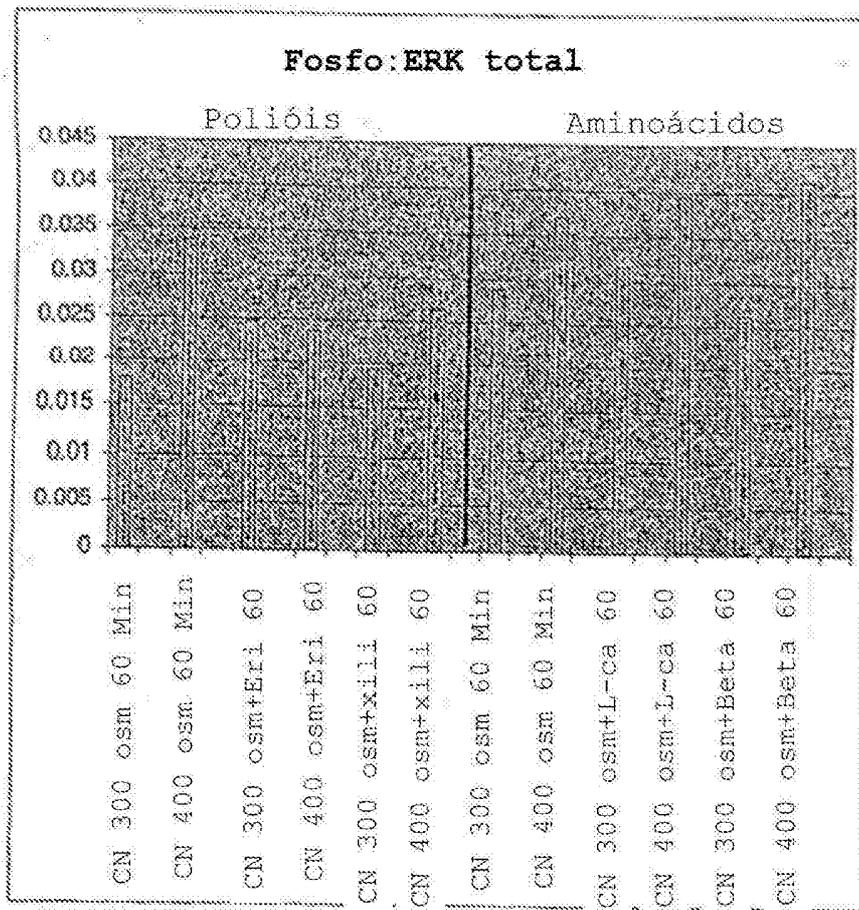


Figura 5

Resumo dos Efeitos Dependentes da Concentração sobre a TEER

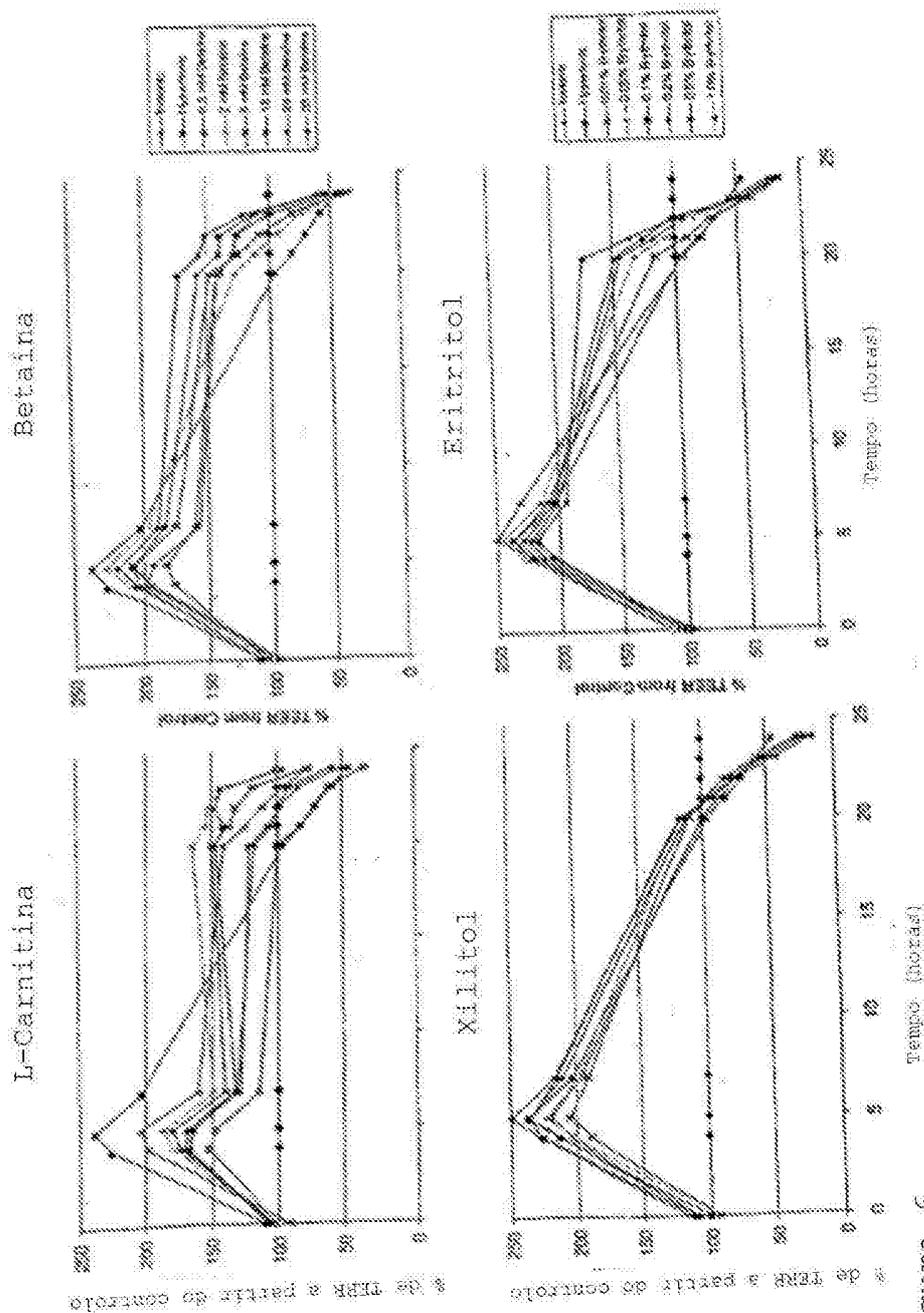


Figura 6

Efeito da Combinação de CS sobre a TEER

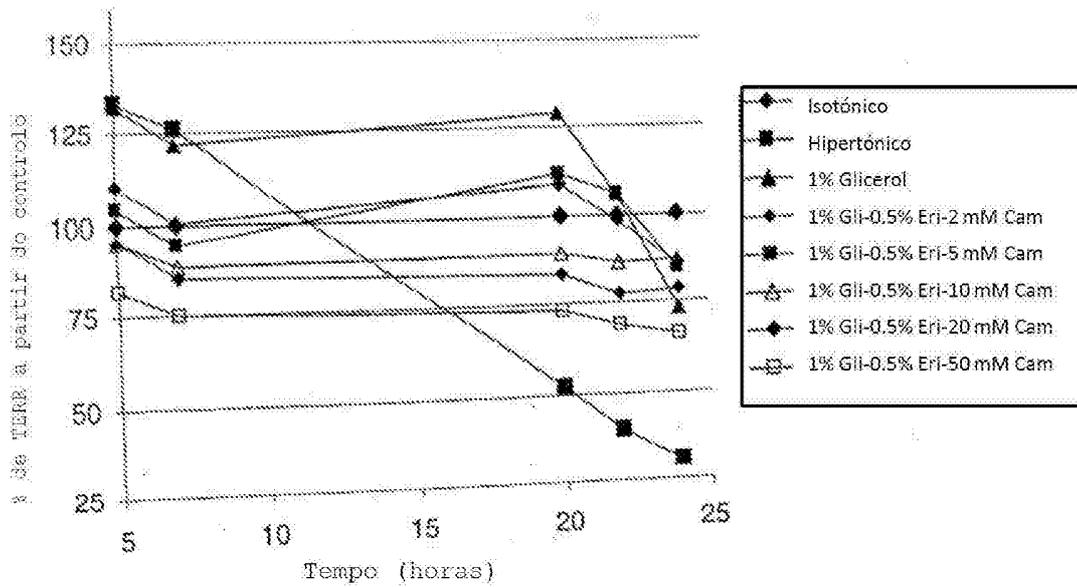


Figura 7

Efeito da Combinação de CS sobre a TEER

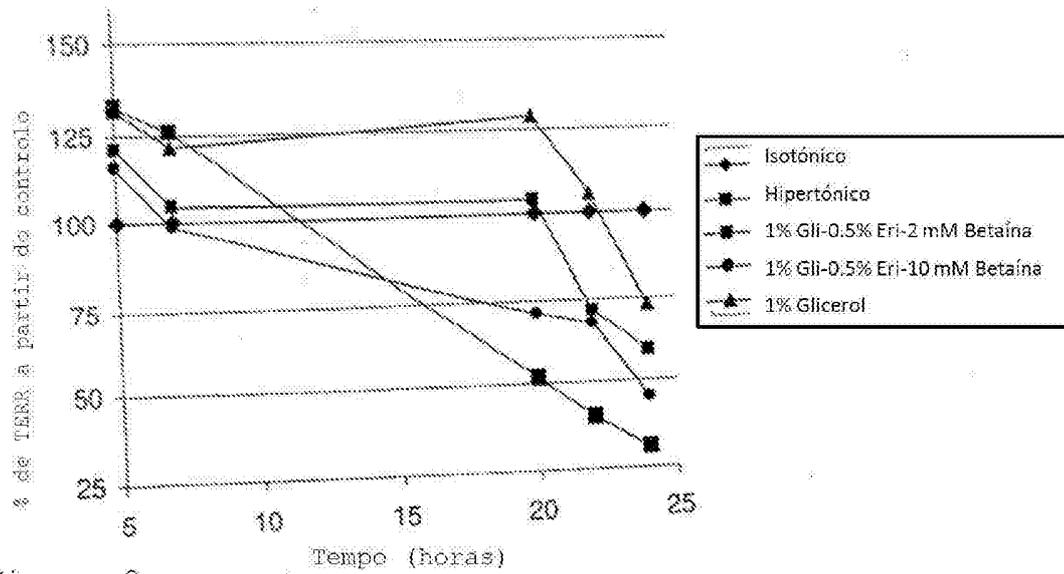


Figura 8