

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 924**

51 Int. Cl.:
A61K 48/00 (2006.01)
A61P 27/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07848839 .2**
96 Fecha de presentación: **02.02.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **1993584**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.11.2008**

54 Título: **Inhibidores de la actividad de CXCR4 para su uso en el tratamiento de trastornos oculares**

30 Prioridad:
02.02.2006 US 764892 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.08.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.08.2012

73 Titular/es:
ALLERGAN, INC.
2525 DUPONT DRIVE
IRVINE CA 92612, US

72 Inventor/es:
DONELLO, John, E.;
MCLAUGHLIN, Anne, P.;
SCHWEIGHOFFER, Fabien, J.;
MAHE, Florence y
RODRIGUES, Gerard, A.

74 Agente/Representante:
Fúster Olaguibel, Gustavo Nicolás

ES 2 385 924 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de la actividad de CXCR4 para su uso en el tratamiento de trastornos oculares.

Antecedentes de la Invención

5 Aproximadamente una de cada 247 personas (más de 1,1 millones de personas) es legalmente ciega en Estados Unidos, en todo el mundo se estima que 42.000.000 personas están afectadas por la ceguera - total o casi total. Además, un gran número de personas padecen otros trastornos retinianos graves.

La ceguera en el mundo desarrollado es a menudo evitable. Por ejemplo, un estudio de la ceguera en la India revela que 62% está causada por cataratas, 19% por errores de refracción, 5,8% por glaucoma no tratado.

10 Sin embargo, los trastornos retinianos, incluyendo sin limitación, la retinopatía diabética, retinitis pigmentosa (RP), degeneración macular asociada con la edad húmeda y seca (DMAE), enfermedades inflamatorias incluyendo edema macular, oclusión venosa central, uveítis que afecta a la retina, y vítreo-retinopatía proliferativa son causas muchos más prevalentes de ceguera en el mundo Oriental.

15 La retinopatía diabética es otra forma común de enfermedad retiniana. Si bien la dieta, el ejercicio, y la terapia con fármacos pueden hacer mucho para atenuar los efectos oculares de la diabetes sobre la retina, no existe una cura específica ni profilaxis para la retinopatía diabética.

20 De un modo similar, el glaucoma es una afección que se caracteriza muy comúnmente (aunque no exclusivamente) por una elevada presión intraocular y que también implica degeneración del nervio óptico y la retina. Aunque la presión ocular elevada es susceptible de gestión, por ejemplo, con antagonistas de receptores β adrenérgicos tales como el timolol y un agonista de receptores α adrenérgicos tales como brimonidina, la degeneración neural que acompaña al glaucoma no es reversible ni se puede detener indefinidamente disminuyendo la presión intraocular solamente.

25 En el mundo desarrollado, con diferencia, la principal enfermedad retiniana que ocasiona ceguera en adultos de más de 60 es la degeneración macular asociada con la edad (DMAE), y con el segmento de población en este intervalo de edad creciendo progresivamente en los Estados Unidos, es probable que el número de casos aumente al mismo ritmo sin un tratamiento eficaz para la afección.

30 La DMAE disminuye progresivamente la función de las capas neurales y epiteliales específicas de la mácula retiniana. La presentación clínica de la afección incluye la presencia de drusen, hiperplasia del epitelio pigmentado retiniano (EPR), atrofia geográfica, y neovascularización coroidal (NVC). La DMAE atrófica se caracteriza por atrofia retiniana externa y del EPR y degeneración de la coriocapilar subyacente, y representa alrededor de 25% de los casos con pérdida visual central grave.

La DMAE exudativa (o "húmeda") se caracteriza por crecimiento NVC bajo el EPR y la retina, y posterior hemorragia, desprendimiento de retina exudativo, cicatrización diciforme, y atrofia retiniana. También se puede producir desprendimiento del epitelio pigmentado. La DMAE exudativa representa alrededor de 75% de la DMAE con pérdida de visión central grave.

35 En la actualidad la mayor parte de los tratamientos para esta enfermedad implican terapias que son muy útiles para pacientes que están padeciendo síntomas relativamente avanzados de la enfermedad. Estas terapias incluyen fotocoagulación con láser, terapia fotodinámica y cirugía en los casos en los que está implicada la NVC. No obstante, no existe actualmente una terapia eficaz para las fases tempranas de la enfermedad.

40 Se sabe que la inflamación, concretamente la inflamación crónica, juega un papel importante en el desarrollo de la DMA. Los drusen, cuya presencia es uno de los rasgos distintivos de la DMA, comprenden proteínas y componentes celulares incluyendo inmunoglobulina y componentes de las rutas del complemento que están implicados en el depósito del complejo inmunitario, moléculas implicadas en la respuesta aguda a la inflamación tales como α 1-antitripsina y componente P del amiloide; antígenos de clase II del complejo principal de histocompatibilidad. Adicionalmente, los drusen incluyen fragmentos de EPR, melanina y lipofuscina. Algunos investigadores han sugerido que la presencia de vitronectina, apolipoproteína E y otras moléculas asociadas a los drusen indica que las células del EPR están sujetas a un ataque del complemento sub-letal, crónico. Dicho ataque puede dar como resultado la eliminación de los complejos de ataque a la membrana asociados a la superficie (por ejemplo mediante liberación o endocitosis de la membrana celular) y la formación de depósitos extracelulares de complejos inmunitarios y componentes del complemento, macrófagos activados y otras células inflamatorias secretan enzimas que pueden dañar las células y degradar la membrana de Bruch (la capa interna de la coroides en contacto con el EPR). Liberando citoquinas, las células inflamatorias pueden promover el crecimiento NVC en el espacio sub-EPR.

55 Curiosamente, la activación del complemento y los eventos inflamatorios asociados ocurren en otras enfermedades que muestran degeneración macular y acumulación de depósitos de tejido anormales, tales como aterosclerosis y enfermedad de Alzheimer. En realidad, el péptido β -amiloide del Alzheimer se encuentra junto con los componentes del complemento activados en un componente vesicular sub-estructural con drusen.

La administración intravítrea de corticoesteroides parece reducir la incidencia de infiltración en el SNC en primates. Esto se puede deber a la actividad anti-inflamatoria conocida de los esteroides, que puede alterar la actividad de las células inflamatorias en la coroides. No obstante, el uso crónico de esteroides tiene graves efectos secundarios, incluyendo intolerancia a la glucosa, diabetes y ganancia de peso.

- 5 El inicio de la respuesta inflamatoria implica la detección de una lesión, otro ataque, o infección por miembros del sistema de vigilancia inmunitaria del anfitrión, que comprende las células inmunitarias que están implicadas en el tráfico por el organismo. El tráfico de células inmunitarias implica circulación, alojamiento y adherencia, extravasación (entrada de leucocitos a través de la barrera endotelial), y movimiento de poblaciones concretas de leucocitos entre los vasos sanguíneos, la linfa y los órganos y los tejidos linfáticos.
- 10 El tráfico es regulado por una interacción compleja de las moléculas de adherencia celular ((tales como integrinas y selectinas) y de una familia de citoquinas, denominadas quimioquinas, y sus receptores.

- Las quimioquinas comprenden una gran familia de moléculas quimioatrayentes que funcionan en parte para guiar a los leucocitos fagocíticos del sistema inmunitario hacia el tejido dañado o infectado. Hasta la fecha se han identificado dos grupos de quimioatrayentes; el primer grupo comprende los quimioatrayentes "clásicos" incluyendo N-formil-péptidos derivados de bacterias, péptidos de fragmentos del complemento C5a y C3a, y lípidos tales como leucotrieno B4 y factor activador de plaquetas.
- 15

- El segundo grupo de quimioatrayentes, más recientemente caracterizado, comprende una superfamilia de citoquinas quimiotácticas que tienen pesos moleculares de alrededor de 8 a alrededor de 17 KDa. Estas quimioquinas son proteínas secretadas que funcionan en el tráfico, el reclutamiento, y la recirculación de leucocitos. También se ha descubierto que juegan un papel crítico en muchos procesos patofisiológicos tales como respuestas alérgicas, enfermedades infecciosas y autoinmunitarias, angiogénesis, inflamación, crecimiento de tumores, y desarrollo hematopoyético. Aproximadamente 80 por ciento de estas proteínas tienen de 66 a 78 aminoácidos en su forma madura que comprende una región núcleo de homogeneidad relativa. Las quimioquinas restantes tienen un peso molecular más grande, existiendo aminoácidos adicionales aguas arriba del "núcleo" de la proteína, o como parte de un segmento C-terminal ampliado.
- 20
- 25

- Todas las quimioquinas señalizan a través de la subfamilia de quimioquinas de receptores transmembrana de 7 dominios acoplados a la proteína G (GPCR). Los GPCR constituyen la familia más grande de detectores de señales en la superficie celular. *La activación de los GPCR por ligandos selectivos o específicos desencadena la propagación de la señal a través de las proteínas G, que con posterioridad regulan las actividades de las moléculas efectoras aguas abajo dentro de la célula diana. Las proteínas G se denomina de ese modo porque se pueden unir a y ser activadas por el guanidin trifosfato (GTP).
- 30

- La fidelidad de la transducción de la señal mediada por GPCR se mantiene a diferentes niveles. En primer lugar, la interacción ligando-receptor es muy selectiva observándose comúnmente discriminación de estereoisómeros del ligando. En segundo lugar, cada GPCR puede interactuar generalmente solo con un pequeño subgrupo de proteínas G, que a su vez regulan un número limitado de efectores. Las proteínas G se clasifican en cuatro subfamilias denominadas Gs, Gi, Gq y G12, de acuerdo con sus homologías de secuencia.
- 35

- Las holoproteínas G intactas son polipéptidos heterotriméricos. La forma unida a guanidin difosfato (GDP) de la proteína G heterotrimérica es inactiva, mientras la forma unida a GTP es activa. Tras la unión del ligando al GPCR, el receptor experimenta un cambio en la conformación que da como resultado el reclutamiento de la proteína G heterotrimérica inactiva para el GPCR unido al ligando. Una vez unida al receptor, la subunidad α de la proteína G expulsa el GDP unido, sustituye el GDP por GTP y, activada de ese modo, la subunidad α de la proteína G se disocia ahora del dímero de la subunidad G β y G γ asociadas íntimamente (o " $\beta\gamma$ "). El dímero $\beta\gamma$ está en ese caso libre para interactuar con y regular diferentes efectores. De un modo similar, la subunidad α activada puede, por ejemplo, unirse a y estimular la adenililo ciclasa, que a su vez regula la producción catalítica de AMPc. Alternativamente, si la proteína G es un trímero Gq, la subunidad α activada se puede unir a y regular la PLC.
- 40
- 45

Las estructuras primarias de todas las subunidades α de la familia Gq comparten altos porcentajes de identidad entre sí y también comparten propiedades funcionales comunes. Pueden regular la actividad de las isoformas de la fosfolipasa C (PLC) por medio de la activación selectiva por los GPCR. Esto conduce a un incremento en el nivel intracelular de los fosfatos de inositol (PI).

- 50 Los GPCR son miembros de la clase de receptores conocidos como receptores "serpentina". Los dominios helicoidales de estos receptores relacionados estructuralmente cruzan la membrana plasmática siete veces y poseen un extremo amino extracelular y un extremo carboxilo intracelular. Se estima que los receptores acoplados a proteína G existen en más de 1.000 variaciones en mamíferos y regulan cierta actividad en casi todas las células humanas. Los miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteína G incluyen, sin limitación, los receptores alfa adrenérgicos, beta adrenérgicos, dopaminérgicos, de acetilcolina muscarínicos, de acetilcolina nicotínicos, de rhodopsina, opioides, de somatostatina, y de serotonina.
- 55

En la actualidad existen al menos diecisiete receptores de quimioquinas conocidos, y muchos de estos receptores muestran propiedades de unión promiscuas, por medio de lo cual varias quimioquinas diferentes pueden señalizar a

través del mismo receptor. Los receptores de quimioquinas tienen aproximadamente 350 aminoácidos de longitud y se pueden alinear entre sí solamente si se introducen espacios en la secuencia primaria "universal". El extremo N es ácido y extracelular, puede ser sulfatado y contiene sitios de glicosilación unidos a N. El extremo C es intracelular y comprende residuos de serina y treonina susceptibles de ser fosforilados para la regulación del receptor. Los siete dominios transmembrana están unidos por tres bucles intracelulares y tres extracelulares de residuos hidrófilos. Las cisteínas altamente conservadas en el primer y segundo bucles extracelulares están unidas por un enlace disulfuro. Las proteínas G se acoplan a los receptores por medio del extremo C y quizás el tercer bucle intracelular.

Los ligandos de receptores de quimioquinas se dividen en subfamilias basándose en los motivos de secuencia de aminoácidos conservada. La mayor parte de los miembros de las familias de quimioquinas tienen al menos cuatro residuos de cisteína conservados que forman dos enlaces disulfuro intramoleculares. Las subfamilias se definen por la posición de los dos primeros residuos de cisteína, Así:

a) La subfamilia alfa (α), también denominada de quimioquinas CXC, tienen un aminoácido ("X", que indica que cualquier aminoácido puede ocupar esta posición) que separa los dos primeros residuos de cisteína. Este grupo se puede subdividir adicionalmente basándose en la presencia o ausencia de un motivo de aminoácidos Glu-Leu-Arg (ELR) inmediatamente antes del primer residuo de cisteína. Existen actualmente cinco receptores específicos de CXC y se denominan CXCR1 a CXCR5. Las quimioquinas ELR se unen a CXCR1 y/o CXCR2 y generalmente actúan como quimioatrayentes y activadores de neutrófilos. En la actualidad, se ha informado sobre 14 genes humanos diferentes que codifican quimioquinas CXC en las publicaciones científicas con cierta diversidad adicional aportada por empalmes alternativos.

b) En la subfamilia beta (β), también denominada de quimioquinas CC, las dos primeras cisteínas son adyacentes entre sí sin ningún aminoácido intermedio. En la actualidad existen 24 miembros distintos de la subfamilia β humana. Los receptores de este grupo se denominan CCR1 a CCR11. Las células diana para los diferentes miembros de la familia de CC incluyen la mayor parte de los tipos de leucocitos.

c) Existen dos proteínas conocidas con homología con las quimioquinas que se encuentran fuera de las subfamilias α y β . La Linfotactina es el miembro de la clase gamma (γ) (quimioquina C) que ha perdido la primera y la tercera cisteínas. El receptor de linfotactina se denomina XCR1. La Fractalquina, el único miembro actualmente conocido de la clase delta (δ) (quimioquina CXC), tiene tres aminoácidos intermedios entre los dos primeros residuos de cisteína. Esta molécula es única entre las quimioquinas ya que es una proteína transmembrana con el dominio N-terminal fusionado a un tallo largo de tipo mucina. El receptor de fractalquina es conocido como CXCR1.

Se han utilizado una variedad de enfoques para identificar quimioquinas. Los primeros descubrimientos de quimioquinas se realizaron como resultado de su actividad biológica o a través de estudios que pretendían identificar proteínas que estaban reguladas al alza después de la activación celular o expresadas diferencialmente en tipos seleccionados de células. La mayor parte de las quimioquinas referidas recientemente, sin embargo, fueron identificadas a través de la bioinformática. Las bases de datos de EST (Etiquetas de Secuencia Expresada) contienen las secuencias de un gran número de fragmentos de ADNc de una variedad de tejidos y organismos. La traducción de las EST puede proporcionar secuencias de aminoácidos parciales del proteoma. Debido a que las quimioquinas son comparativamente pequeñas y contienen motivos de aminoácidos distintivos, muchos miembros de familias novedosas han sido identificados por los investigadores de las bases de datos de EST.

Los factores derivados de células estromáticas SDF-1 α y SDF-1 β son quimioquinas CXC codificadas por ARNm empalmados alternativamente. Las formas α y β maduras difieren solamente en que la forma β tiene cuatro aminoácidos adicionales en su extremo C. Estas proteínas están altamente conservadas entre especies. La mayoría de los estudios funcionales se han realizado con SDF-1 α y sugieren una variedad de papeles para esta molécula. Ésta es necesaria para el desarrollo normal de las células B y el cerebro. Es un potente quimioatrayente para las células progenitoras de médula ósea y células dendríticas CD34. También parece que juegan un papel en el tráfico y la adherencia de linfocitos y megacariocitos.

Recientemente se ha informado sobre un producto de rata adicional empalmado alternativamente, denominado SDF-1 γ . El ARNm de SDF-1 γ es similar al mensaje de SDF-1 β pero con un exón adicional insertado cerca del extremo C-terminal de la región codificante. Los cuatro aminoácidos de SDF-1 β que están normalmente agregados al extremo C de SDF-1 α están sustituidos en SDF-1 γ por un segmento de 30 aminoácidos que contiene 17 residuos cargados positivamente. Los transcritos de SDF-1 β y 1 γ presentan diferentes patrones de expresión en numerosos tejidos. También son expresados recíprocamente en cerebro de rata en desarrollo. El SDF-1 β es expresado en cerebro embrionario y neonatal, mientras el SDF-1 γ es expresado en cerebro adulto. La función de esta variante todavía se desconoce actualmente.

Recientemente se ha informado sobre una única actividad quimiotáctica para SDF-1 en la que las subpoblaciones de células T fueron atraídas por concentraciones de SDF-1 α de 100 ng/mL pero repelidas por concentraciones de 1 μ g/mL. La concentración más elevada que lograba la repulsión era comparable con la concentración de SDF-1 que se produce en la médula ósea. Los estudios con inhibidores revelan que la migración en ambas direcciones requiere receptor CXCR4, proteínas G, y fosfatidilinositol 3-quinasa. No obstante, los inhibidores de tirosina quinasa bloquean

la quimioatracción y no tienen efecto sobre la quimiorrepulsión, mientras un agonista de AMPc inhibe la quimiorrepulsión pero no afecta a la quimioatracción.

5 CD34 es un marcador de la superficie celular que se corresponde en los seres humanos con los progenitores de médula ósea que tienen una elevada respuesta proliferativa a las citoquinas hematopoyéticas. Se ha observado que las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) CD34⁺ migran tanto *in vitro* como *in vivo* hacia un gradiente de SDF-1 producido por células de médula ósea estructurales denominadas células estromáticas. En los experimentos *in vivo*, se administró SDF-1 al bazo. Véase Aiuti et al., 185 J. Exp. Med. 111 (Enero 6, 1997); ésta y otras referencias citadas en esta solicitud de patente se incorporan como referencia a la presente en su totalidad.

10 Las células mieloides y eritroides, así como las células linfoides B y T, han sido encontradas en cultivos de células que tienen el fenotipo CD34⁺. Las concentraciones de SDF-1 que estimulan una respuesta quimiotáctica también ocasionan una elevación transitoria de Ca⁺⁺ en células CD34⁺. Se ha demostrado que las células CD34⁺ son capaces de reconstituir células sanguíneas en babuinos irradiados letalmente y en seres humanos. La toxina Pertussis inhibe completamente la quimiotaxis inducida por SDF-1, indicando que el receptor de quimioquina presente en las células CD34⁺ procesa señales SDF-1 a través de Gi. El SDF-1 atrae CFU-GM (unidades formadoras de colonias de granulocitos/macrófagos), CFU-MIX (unidades formadoras de colonias de linaje mixto y BFU-E (unidades formadoras de colonias eritroides en ramillete), células progenitoras de médula ósea humana (MO), sangre de cordón umbilical (SC) y sangre periférica movilizada (SP). Existe un alto grado de conservación entre SDF-1 humano y de ratón (una diferencia de un solo aminoácido), y el SDF-1 de ratón ocasiona quimiotaxis transendotelial tanto sobre CPH humanas como de ratón.

20 Curiosamente, las CPH han sido identificadas por ser capaces de diferenciarse en células del hígado. Cuando se produce un trasplante clínico de hígado o médula ósea; se han encontrado ocasionalmente hepatocitos derivados de MO. Si bien el número de CPH que se injertan en hígado irradiado y se desarrollan en células productoras de albúmina, de tipo hepatocito es extremadamente bajo, cuando el hígado está dañado o sensibilizado por una inflamación viral, el número de tales células aumenta en respuesta al estrés. En ratones existe una amplificación muy grande de CPH que tienen al menos algunos de los rasgos distintivos de la morfología y la función hepática.

30 El SDF-1, que también es conocido como CXCL12, es ampliamente expresado en diferentes tejidos durante el desarrollo y la edad adulta, y estos tejidos incluyen el hígado. El estrés, causado por lesión, infección o ataque, puede facilitar la diferenciación específica del tejido e inducir la secreción de mediadores de señalización que incrementan la migración y guían las células troncales pluripotenciales transplantadas al tejido dañado. Asimismo, existe un incremento de la expresión de SDF-1 en el hígado después de que todo el organismo sea irradiado. En seres humanos, en aquellos pacientes inyectados con HCV, la expresión de SDF-1 se extiende al tejido del conducto biliar, el canal de Hering, y las células ovas.

35 Este incremento en la expresión de SDF-1 relacionado con el estrés parece estar asociado con ciertos factores incluyendo las metaloproteasas de la matriz MMP-9 y MMP-2. Estas proteasas son activadas después de la lesión del hígado mediada por CCl₄, y este fenómeno desencadena a su vez la movilización de células progenitoras humanas desde la médula a la circulación general. Al mismo tiempo aumentan los niveles de expresión del receptor CXCR4.

Guerciolini et al., en la Publicación de la Solicitud de Patente de los Estados Unidos 2006/0019917 describen la interferencia del ARN_i (ARN de interferencia corto) de una isoforma del factor-1 derivado de células estromáticas.

40 **Descripción Detallada de la Invención**

Los autores de la presente invención han descubierto que las células del EPR en las cuales se indujo un estrés oxidativo presentaban un incremento significativo en la transcripción del gen CXCR4, evaluado por medio del análisis de matrices de genes, cuando se expusieron células ARPE-19 al factor generador de estrés químico (hiperóxido de tert-butilo o t-BH) durante 6 horas, experimentaron muerte celular en 24 horas. Las células expuestas al factor generador de estrés durante solamente 3 horas, por el contrario, tienen una tasa de supervivencia de 70% de al menos 24 horas. El grado de expresión de CXCR4 de estas últimas células se aproximó al de las células no sometidas a tratamiento previo no expuestas a ningún factor generador de estrés.

La invención tiene que ver con una composición que comprende un inhibidor de la actividad de CXCR4 para su uso en un método de tratamiento de una afección oftálmica en un mamífero, donde dicho inhibidor comprende al menos una de las siguientes secuencias de ribonucleótidos: SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, y SEQ ID NO: 55, donde dicha afección oftálmica se selecciona entre neurorretinopatía macular; enfermedad de Behcet; neovascularización coroidal; uveítis diabética; degeneración macular tal como degeneración macular aguda,

degeneración macular asociada con la edad no exudativa y degeneración macular asociada con la edad exudativa; edema, tal como edema macular, edema macular cistoide y edema macular diabético; coroiditis multifocal; trastornos retinianos, tal como oclusión venosa central retiniana, retinopatía diabética (incluyendo la retinopatía diabética proliferativa), enfermedad retiniana uveítica; oftalmia simpática; síndrome de Vogt Koyanagi-Harada (VKH) y efusión uveal.

En un aspecto de referencia la presente memoria está dirigida a un método de inhibición o reducción de la velocidad de progreso de la angiogénesis retiniana o coroidal en un mamífero, que comprende: administrar al tejido retiniano de dicho mamífero una composición que comprende un inhibidor de la actividad de CXCR4. Véanse, p. ej., Tachibana et al., Nature 393:591 (Junio, 1998); Horuk, NATURE 393:525 (Junio, 1998); Salcedo et al., AM. J. PATHOLOGY 154:1125 (Abril, 1999); Kryczek et al., CANCER RES. 65:465 (15 Enero, 2005); Zou et al., NATURE 393:595 (Junio, 1998); Gupta et al., J. BIOL. CHEM. 273:4282 (Feb. 13 1998); Schioppa et al., J. EXP. MED. 198:1391 (Noviembre 3, 2003). Adicionalmente, las siguientes referencias comentan los efectos del SDF-1 sobre la angiogénesis: Grunewald et al., CELL 124:174 (Enero 13, 2006); Ruiz de Almodovar et al., CELL 124:174 (Enero 13, 2006); Butler et al., J. CLIN. INVEST. 11586 (Enero 2005); Orimo et al., CELL 121:335 (6 Mayo, 2005).

Adicionalmente, CXCR4 (junto con CCR5) ha sido implicado en la etiología de la infección de macrófagos y células T por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Por consiguiente, ha sido objeto de muchos estudios. Las siguientes referencias describen agentes capaces de inhibir la actividad o la expresión de CXCR4 o ambas:

Inhibidores de CXCR4 de molécula pequeña:

Por "molécula pequeña" se quiere significar un compuesto químico distinto de un polinucleótido o un polipéptido. Las moléculas pequeñas inhibidoras de CXCR4 son descritas, entre otras fuentes, por Bridger et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2002/0077339 A1; Bridger et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2002/0147192 A1; Tudan et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2002/0156034 A1; Bridger et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2003/0220341 A1; Bridger et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 6.667.320 B2; Bridger et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2004/0019058 A1; Bridger et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2004/0102428 A1; Yanaka et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2004/0157818; Kishimoto et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2004/0209837 A1; Bridger et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2004/0209921 A1; Bridger et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2004/0235814 A1; Yamazaki et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2004/0254221 A1; Bridger et al. Patente de los Estados Unidos Núm. 6.835.731 B2; Zlotnik et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0002939 A1; Bridger et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0026942 A1; Schols Patente de los Estados Unidos Núm. 6.872.714 B1; Bridger et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0154005 A1; Winchester et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0202005 A1; Kaplan et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0239898 A1; Hanai et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0276805 A1; Tudan et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2006/0014682 A1; Shim et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2006/0264451; Losordo et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2006/0194776; y Ochiai et al. Publicación Internacional Núm. WO 2006/090853.

Por ejemplo, y sin limitación, Bridger et al., en US2002/0077339 (la solicitud '339), presentada el 15 de Diciembre de 2000 describen moduladores de unión a CXCR4 (incluyendo antagonistas) que comprenden compuestos heterocíclicos con la estructura básica: $V-CR_2-Ar^1-CR_2NR-(CR_2)_x-Ar^2$ incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables y las formas protegidas de los mismos, donde V es un compuesto heterocíclico sustituido de 9-24 miembros que contiene 2-4 átomos de nitrógeno amínicos opcionalmente sustituidos espaciados entre sí por 2 o más átomos de carbono opcionalmente sustituidos, y cuyo heterociclo puede comprender opcionalmente un anillo aromático o heteroaromático fusionado, y donde

(a) dicho heterociclo contiene al menos un O o S, dicho O o S espaciado de cualquier heteroátomo adyacente por al menos 2 átomos de carbono, y donde dicho S está opcionalmente oxidado o

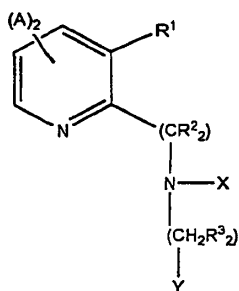
(b) al menos un átomo de carbono de dicho anillo está sustituido por un sustituyente captador de electrones, o

(c) tanto (a) como (b);

y donde cada R es independientemente H o alquilo de cadena lineal, ramificada o cíclico que contiene 1-6 átomos de carbono; x es 0-4; Ar^1 es un radical aromático o heteroaromático no sustituido o sustituido; y Ar^2 es un grupo aromático o heterocíclico no sustituido o sustituido.

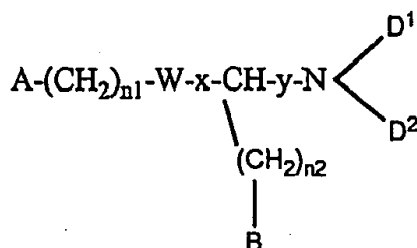
Los ejemplos representativos de tales compuestos y los métodos para elaborar estos compuestos se proporcionan en las Figuras 1-10 y en los Ejemplos 1-8 de la publicación '339', que también describe el uso de los compuestos para la inhibición de la infección por VIH, para el tratamiento de la artritis inducida por colágeno, y su implicación en el crecimiento de tumores, aterosclerosis.

Como otro ejemplo, sin limitación, otros compuestos inhibidores de CXCR4 son descritos por Bridger et al., Publicación de los Estados Unidos Núm. 2004/0102428 (la publicación '428), presentada el 12 de Abril de 2004. Estos tienen una estructura genérica que comprende la fórmula:



5 donde X es $(CR^3)_o-(CR^3=CR^3)_p-(CR^3)_q-NR^5_2$; $(CR^3)_2$, $-R^4$; un anillo monocíclico o bicíclico que contiene opcionalmente N, O o S; o un bencilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido; siempre que dicho bencilo no esté sustituido con un arilo o heteroarilo de 5-6 miembros a través de un conector L-NH-L, donde cada L es un enlace, CO, SO₂ o CH₂; Y es un radical aromático o parcialmente aromático monocíclico o bicíclico que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido; A y R¹ son cada uno un sustituyente que no interfiere, y siempre que dos A no formen un anillo adicional; R² y R³ son independientemente H o un alquilo opcionalmente sustituido; R⁴ es un anillo heterocíclico opcionalmente sustituido; o un heterocompuesto que contiene al menos un =O, SO, C=N, ciano, NROR, o halo, donde dicho heterocompuesto está opcionalmente sustituido con un anillo heterocíclico; R⁵ es H o alquilo; donde al menos uno de R¹ y R² no es H; y donde R¹ y R² pueden estar conectados para formar un anillo adicional si Y no contiene un residuo 2-imidazolilo opcionalmente conectado a un anillo adicional; l y n son independientemente 0-4; p es 0-1; o y q son independientemente 1-4; r es 1-6; siempre que si X es $(CR^3)_2$, $-R^4$, r es al menos dos si R⁴ es 2-piridinilo, quinolinilo, imidazolilo o furano; y adicionalmente siempre que dicho compuesto no sea (1-piridin-2-etilo)-(2-piridin-2-il-etil)-piridin-2-ilmetil-amina. Los Ejemplos 1-441 de la publicación '428 proporcionan ejemplos de compuestos específicos abarcados por esta fórmula genérica, y los métodos de elaboración de tales compuestos.

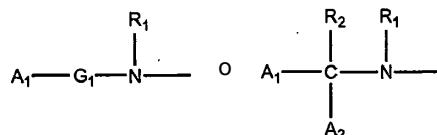
Adicionalmente, Yamazaki et al. Publicación de Patente de los Estados Unidos Núm. 2004/0254221, presentada el 27 de Septiembre de 2002 describen otros inhibidores de CXCR4 de la siguiente fórmula general (1) o una sal farmacológicamente aceptable de los mismos:



En la fórmula general (1),

n₁ representa un entero de 0 a 3 y n₂ representa un entero de 0 a 4;

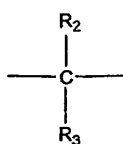
A representa un grupo representado por la siguiente fórmula general (2):



en la fórmula general (2),

A₁ y A₂ representan cada uno independientemente un anillo heteroaromático mono- o policíclico opcionalmente sustituido, o un anillo aromático mono- o policíclico opcionalmente sustituido;

G₁ representa un enlace sencillo o un grupo representado por la siguiente fórmula general (3); y

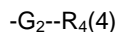


R¹, R² y R³ representan un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo opcionalmente sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alqueno opcionalmente sustituido que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo alquino

opcionalmente sustituido que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, o un grupo alquilo cíclico opcionalmente sustituido que tiene de 3 a 6 átomos de carbono;

5 W representa un grupo alqueno opcionalmente sustituido que tiene de 1 a 7 átomos de carbono, un grupo alquenileno opcionalmente sustituido que tiene de 2 a 7 átomos de carbono, un grupo alquinileno opcionalmente sustituido que tiene de 2 a 7 átomos de carbono, un grupo alquilo cíclico opcionalmente sustituido que tiene de 3 a 10 átomos de carbono, un anillo aromático mono- o poli-cíclico opcionalmente sustituido, un anillo heteroaromático mono- o poli-cíclico opcionalmente sustituido, o un anillo heterocíclico saturado mono- o poli-cíclico opcionalmente sustituido;

10 D₁ y D₂ representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo representado por la siguiente fórmula general (4):

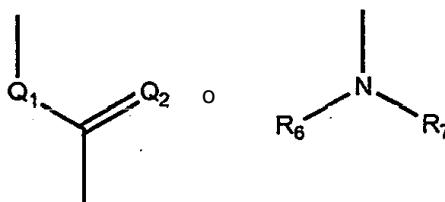


en la fórmula general (4),

15 G₂ representa un grupo alqueno opcionalmente sustituido que tiene de 1 a 15 átomos de carbono, un grupo alquenileno opcionalmente sustituido que tiene de 2 a 7 átomos de carbono, o un grupo alquinileno opcionalmente sustituido que tiene de 2 a 7 átomos de carbono; y

20 R₄ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo cíclico opcionalmente sustituido que tiene de 3 a 10 átomos de carbono, un anillo aromático mono- o poli-cíclico opcionalmente sustituido, un anillo aromático policíclico opcionalmente sustituido y parcialmente saturado, un anillo heteroaromático mono- o poli-cíclico opcionalmente sustituido, un anillo heteroaromático policíclico opcionalmente sustituido y parcialmente saturado, o un anillo heterocíclico saturado mono- o poli-cíclico opcionalmente sustituido ;

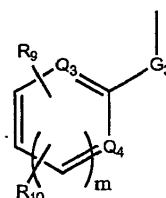
B representa un grupo representado por la siguiente fórmula general (5):



en la fórmula general (5),

25 Q₁ representa S, O, o NH y Q₂ representa S, O, o NR₈ (excepto para el caso de Q₁=NH y Q₂=NR₈); R₅ y R₈ representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior opcionalmente sustituido, un grupo alquilo cíclico opcionalmente sustituido, o un anillo aromático opcionalmente sustituido, y R₅ y R₈ pueden formar opcionalmente un anillo; y

30 R₆ y R₇ representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un sustituyente representado por la siguiente fórmula general (6), un grupo alquilo opcionalmente sustituido que tiene de 1 a 15 átomos de carbono, un grupo alquilo cíclico opcionalmente sustituido que tiene de 3 a 15 átomos de carbono, un grupo alqueno opcionalmente sustituido que tiene de 1 a 3 dobles enlaces y de 2 a 15 átomos de carbono, o un grupo alquinilo opcionalmente sustituido que tiene de 1 a 3 triples enlaces y de 2 a 15 átomos de carbono, y R₆ y R₇ forman opcionalmente un anillo, donde R₆ y R₇ están opcionalmente unidos entre sí por medio de un heteroátomo, un grupo alquilo cíclico, un anillo aromático, un anillo heteroaromático, o un anillo heterocíclico para formar el anillo:



35 en la fórmula (6),

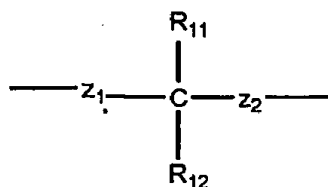
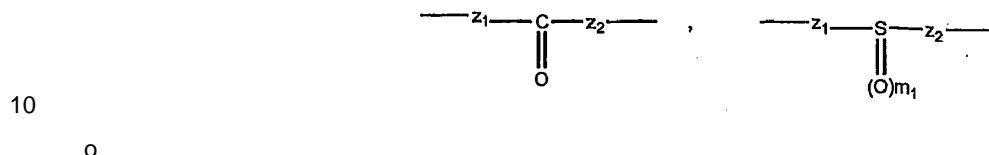
m representa 0 o 1, cuando m=0, Q₃ representa CH o N y Q₄ representa N, S, o O, y cuando m=1, Q₃ y Q₄ representan cada uno independientemente CH o N;

40 G₃ representa un grupo alqueno opcionalmente sustituido que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, o un grupo alquenileno opcionalmente sustituido que tiene de 2 a 4 átomos de carbono;

5 R₉ representa un grupo alquilo inferior, un grupo alcoxi, un grupo haloalquilo, un grupo haloalcoxi, un grupo hidroxialcoxi, un átomo de halógeno, un grupo amino, un grupo alquilamino, un grupo carboxilo, un grupo alcoxycarbonilo, un grupo carbamoilo, un grupo alquilcarbamoilo, un anillo heterocíclico saturado, o un anillo heteroaromático, que está sustituido en cualquier posición en un anillo distinto del de un átomo de hidrógeno opcionalmente existente en el anillo, y cuando m=1 y Q₃ y Q₄ representan simultáneamente CH, R₉ opcionalmente representa un átomo de hidrógeno;

R₁₀ representa un átomo de hidrógeno, o el mismo grupo que R₅, y opcionalmente enlaces con G₃ para formar un anillo;

x representa un grupo representado por la siguiente fórmula general (7):

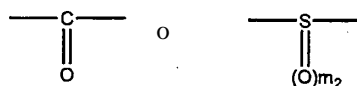


en la fórmula general (7),

15 z₁ y z₂ representan cada uno independientemente un enlace sencillo, S, O, o NR₁₃, y m₁ representa un entero de 1 o 2;

R₁₁, R₁₂, y R₁₃ representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo opcionalmente sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alqueno opcionalmente sustituido que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo alquino opcionalmente sustituido que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, o un grupo alquilo cíclico opcionalmente sustituido que tiene de 3 a 6 átomos de carbono; y

20 e y representa un grupo representado por la siguiente fórmula general (8):



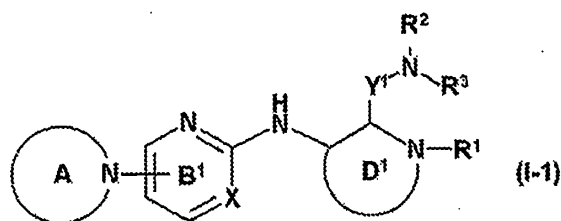
25 en la fórmula general (8), m₂ representa un entero de 1 o 2; y cuando hay un átomo de carbono asimétrico opcionalmente existente en el compuesto representado por la fórmula general (1), el compuesto está en cualquier forma de un isómero ópticamente puro representado como configuración absoluta de R o S, una mezcla de los mismos en cualquier proporción, y una mezcla racémica de los mismos, y cuando hay dos o más de los átomos de carbono asimétricos en el compuesto, el compuesto está en cualquier forma de diastereoisómero ópticamente puro, una mezcla racémica de los mismos, y una combinación de los mismos en cualquier proporción.

Ochiai et al. describen en el documento WO 2006/090853, antagonistas de CXCR4 que tienen la siguiente fórmula general (9):



35 El anillo A en esta estructura representa un anillo heterocíclico que contiene nitrógeno de 5-10 miembros que puede tener un sustituyente; el anillo B representa un anillo heterocíclico que contiene nitrógeno insaturado de 5-10 miembros que puede tener un sustituyente; el anillo D representa un anillo heterocíclico que contiene nitrógeno de 4-15 miembros que puede tener un sustituyente; X representa N o C; Y es alquilo C₁₋₆ sustituido o no sustituido; R₁ representa H, un grupo hidrocarbonado que puede tener un sustituyente, o un grupo anular que puede tener un sustituyente; R₂ y R₃ representan cada uno independientemente H, un grupo hidrocarbonado que puede tener un sustituyente, o un grupo anular que puede tener un sustituyente, o pueden formar, junto con el átomo de nitrógeno unido a cualquiera de estos, un anillo heterocíclico que contiene nitrógeno que puede tener un sustituyente; y R₄ representa H o un grupo hidrocarbonado que puede tener un sustituyente.

40 En una realización del antagonista de CXCR4 de fórmula (9), el antagonista es un compuesto de fórmula (10):



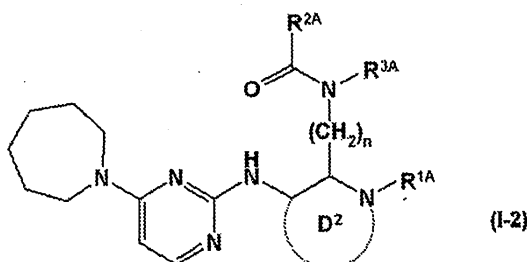
5 donde el anillo B1 representa un anillo de piridina o pirimidina que puede tener un sustituyente; el anillo D1 representa un anillo heterocíclico que contiene nitrógeno monocíclico saturado de 4-8 miembros que puede tener un sustituyente; Y1 representa alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido; y A, X, R1, R2, y R3 tienen los significados dados más arriba.

En otra realización del compuesto de fórmula (10), Y1 es -(CR₅R₆)_n-, donde R5 y R6 representan cada uno un átomo de hidrógeno, o R5 y R6 representan juntos un grupo oxo; n representa un número entero entre 1 y 4, y cuando n representa un número entero entre 2 y 4 cada uno de los CR₅R₆ puede ser idéntico o diferente.

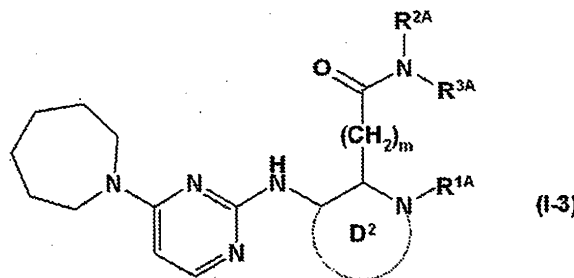
10 En otra realización del compuesto de fórmula (10), R2 representa -(CO)-R_{2A}, donde R_{2A} es (i) un grupo hidrocarbonado que puede estar sustituido con un grupo alcalino y puede tener adicionalmente un sustituyente; (ii) un grupo anular que puede estar sustituido con un grupo alcalino y puede tener adicionalmente un sustituyente; o (iii) un anillo heterocíclico que contiene nitrógeno monocíclico de 5-8 miembros, tal como pirrolidina, piperidina o morfolina; y R3 es un grupo hidrocarbonado que puede tener un sustituyente o un grupo anular que puede tener un sustituyente.

15 En otra realización del compuesto de fórmula (10), el anillo formado por R2 y R3 junto con el átomo o los átomos de nitrógeno a los que se unen es un anillo heterocíclico que contiene nitrógeno de 5-8 miembros que puede tener un sustituyente. En otra realización del compuesto de fórmula (10), D1 es pirrolidina o piperidina.

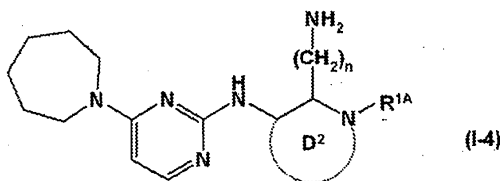
En otra realización del antagonista de CXCR4 de fórmula (9), el antagonista es un compuesto de fórmula (11):



20 un compuesto de fórmula (12):



un compuesto de fórmula (13):



o un compuesto de fórmula (14):

3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino]-1-ciclohexil-2-piperidinil]acetamida, (3S)-N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-pirrolidinil]etil]-3-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-pirrolidinil]etil]-2-morfolincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-1-isopropil-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-N-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-N-(2-metoxietil)-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-N-(2-metoxietil)-4-piperidincarboxamida, (2S)-N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-2-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-1-etil-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-4-hidroxi-4-piperidincarboxamida, (2R)-2-amino-N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-3-(4-hidroxifenil)propanamida, (2S)-2-amino-N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-4-hidroxi-4-piperidincarboxamida, N-(2-aminoetil)-N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-4-piperidincarboxamida, N-(2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-4-piperidincarboxamida, N-(2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-4-piperidincarboxamida, (2R)-2-amino-N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-3-(1H-imidazol-4-il)propanamida, (2S)-2-amino-N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-3-(1H-imidazol-4-il)propanamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]-2-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-2-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)nicotinamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil]isonicotinamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-4-piperidincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-N-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-2-morfolincarboxamida, N-[2-((2RS, 3SR)-3-[[4-(1-azepanil)-2-pirimidinil]amino)-1-ciclohexil-2-piperidinil]etil)-N-(3-hidroxi-4-piperidil)etil]-4-piperidincarboxamida, N-(2-(3-aminopropil)-1-ciclohexilpirrolidin-3-il)-4-(azepan-1-il)pirimidin-2-amina, N-((2R,3S)-2-(3-aminopropil)-1-ciclohexilpirrolidin-3-il)-4-(azepan-1-il)pirimidin-2-amina, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y los profármacos de los mismos.

Los expertos en la técnica entenderán que no se pretende que los ejemplos explícitos proporcionados aquí de los compuestos capaces de unirse a CXCR4 y capaces de bloquear los agonistas endógenos de este receptor, tales como SDF-1 α , constituyan un listado exclusivo o incluso representativo de los aspectos de los compuestos inhibidores de CXCR4 descritos en la presente memoria.

40 **Proteínas inhibidoras de la Actividad de CXCR4**

Se han descrito diferentes antagonistas peptídicos y polipeptídicos de la actividad de CXCR4; estos incluyen, sin limitación, al menos un dominio peptídico de unión a CXCR4 derivado de SDF-1, donde el derivado de SDF-1 no tiene la actividad estimuladora de CXCR4 del SDF-1 de tipo salvaje; y anticuerpos o miméticos de anticuerpos (tales como los descritos con el nombre de Adnectinas[™]).

45 Se describen inhibidores de CXCR4 adicionales en cada una de las siguientes referencias, que proporcionan una descripción completa y detallada de los péptidos así como de cómo elaborarlos y utilizarlos. Estas referencias incluyen Hoxie Patente de los Estados Unidos Núm. 5.994.515; Winchester et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2002/0039993 A1; Devico et al. Patente de los Estados Unidos Núm. 6.399.078 B1; Lobo Publicación de los Estados Unidos Núm. 2003/0099645; Lobo Patente de los Estados Unidos Núm. 6.610.834 B1; Hua et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2003/0165988 A1; Huang et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2003/0220482 A1; Wang et al. Patente de los Estados Unidos Núm. 6.808.877 B2; Clark-Lewis et al. Patente de los Estados Unidos Núm. 6.875.738 B1; Clark-Lewis et al. Patente de los Estados Unidos Núm. 6.946.445 B1; Mueller et al. Patente de los Estados Unidos Núm. 6.949.243 B1; Lobo Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0220787 A1; Martinez-Alonzo et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0221287 A1; Clark-Lewis et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0265969 A1; Plaksin et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0266009 A1; Mueller et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0271665 A1.

Ácidos Nucleicos Inhibidores de la Actividad de CXCR4

60 Adicionalmente, se han descrito ácidos nucleicos inhibidores de la actividad de SDF-1. Estos inhibidores basados en ácidos nucleicos pueden funcionar o bien a nivel de unión al receptor o bien a niveles de expresión génica y traducción. Los ácidos nucleicos inhibidores de la actividad de CXCR4 incluyen, sin limitaciones, enzimas de ácido nucleico (tales como ribozimas), aptámeros de ácido nucleico, ácidos nucleicos antisentido, y ARNi, tal como ARNic.

Ciertas realizaciones específicas de ácidos nucleicos inhibidores de CXCR4 ilustrativos están contenidas en las siguientes referencias: Iijima et al. Patente de los Estados Unidos Núm. 6.429.308 B1; Guercioli et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0124569 A1; Eagles et al. Patente de los Estados Unidos Núm. 6.916.653 B2; Watson et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0202077 A1.

- 5 En la presente memoria un "trastorno retiniano" representa una afección inflamatoria, apoptótica, necrótica o angiogénica que afecta a la retina del ojo. Dicha afección también puede involucrar a otras estructuras o tejidos, incluyendo, sin limitación, la coroides y el epitelio pigmentado retiniano (EPR).

No obstante, en otras realizaciones de la presente invención los oligonucleótidos de la presente invención pueden ser utilizados en el tratamiento de cualquiera de las afecciones oculares apropiadas referidas en la reivindicación 1. Según se utiliza en la presente memoria, una "afección ocular" es una enfermedad, una dolencia o una afección que afecta o involucra al ojo o una de las partes o regiones del ojo. En sentido amplio, el ojo incluye el globo ocular y los tejidos y fluidos que constituyen el globo ocular, los músculos periorbitales (tales como los músculos oblicuo y recto) y la porción del nervio óptico que está dentro de o adyacente al globo ocular.

15 Una afección ocular anterior es una enfermedad, dolencia o afección que afecta o involucra a una región o sitio ocular anterior (esto es, la parte delantera del ojo), tal como un músculo periorbital, un párpado o un tejido o fluido del globo ocular que está localizado anterior a la pared posterior de la cápsula del cristalino o los músculos ciliares. De este modo, la afección ocular anterior afecta o involucra principalmente a la conjuntiva, la córnea, la cámara anterior, el iris, la cámara posterior (detrás del iris pero delante de la pared posterior de la cápsula del cristalino), el cristalino o la cápsula del cristalino y los vasos sanguíneos y nervios que vascularizan o inervan la región o el sitio ocular anterior.

De este modo, una afección ocular anterior puede incluir una enfermedad, dolencia o afección, tal como por ejemplo, afaquia; pseudoafaquia; astigmatismo; blefaroespasma; cataratas; enfermedades de la conjuntiva; conjuntivitis; enfermedades de la córnea; úlcera de la córnea; síndrome del ojo seco; enfermedades de los párpados; enfermedades del aparato lacrimal; oclusión de los conductos del lacrimal; miopía; presbicia; trastornos de la pupila; defectos refractivos y estrabismo. El glaucoma también se puede considerar una afección ocular anterior debido a que el objetivo clínico del tratamiento del glaucoma puede ser la reducción de una hipertensión del fluido acuoso en la cámara anterior del ojo (esto es, la reducción de la presión intraocular).

Una afección ocular posterior es una enfermedad, dolencia o afección que afecta o involucra principalmente a una región o sitio ocular posterior tal como la coroides o la esclerótica (en una posición posterior con respecto a un plano a través de la pared posterior de la cápsula del cristalino), vítreo, cámara vítrea, retina, epitelio pigmentado retiniano, membrana de Bruch, nervio óptico (esto es el disco óptico), y vasos sanguíneos y nervios que vascularizan o inervan una región o sitio ocular posterior.

De este modo, una afección ocular posterior puede incluir una enfermedad, dolencia o afección, tal como por ejemplo, la neurorretinopatía macular aguda; enfermedad de Behcet; neovascularización coroidal; uveítis diabética; histoplasmosis; infecciones, tales como infecciones causadas por hongos o virus; degeneración macular, tal como degeneración macular aguda, degeneración macular asociada con la edad no exudativa y degeneración macular asociada con la edad exudativa; edema, tal como edema macular, edema macular cistoide y edema macular diabético; coroiditis multifocal; trauma ocular que afecta a un sitio o localización ocular posterior; tumores oculares; trastornos retinianos, tales como oclusión venosa central retiniana, retinopatía diabética (incluyendo la retinopatía diabética proliferativa), vítreo-retinopatía proliferativa (VRP), enfermedad oclusiva arterial retiniana, desprendimiento de retina, enfermedad retiniana uveítica; oftalmia simpática; síndrome de Vogt Koyanagi-Harada (VKH); efusión uveal; una afección ocular posterior causada por o influenciada por un tratamiento con láser ocular; afecciones oculares posteriores causadas por o influenciadas por una terapia fotodinámica, fotocoagulación, retinopatía por radiación, trastornos de la membrana epirretiniana, oclusión venosa retiniana ramificada, neuropatía óptica isquémica anterior, disfunción retiniana por retinopatía no diabética, retinitis pigmentosa, y glaucoma. El glaucoma puede ser considerado una afección ocular posterior debido a que el objetivo terapéutico es evitar la pérdida o reducir la aparición de pérdida de visión debida a lesión o pérdida de células retinianas o células del nervio óptico (esto es, neuroprotección).

La presente invención está dirigida a composiciones para su uso en un método de tratamiento de una afección oftálmica, como se define en la reivindicación 1.

"Tratar," según se utiliza aquí, significa afrontar médicamente. Incluye administrar inhibidores de la actividad de CXCR4 para curar, mitigar o evitar una afección. Se entenderá que un "inhibidor de la actividad de CXCR4" o un "inhibidor de CXCR4" representan un agente capaz de bloquear o evitar de otro modo la generación o propagación de una señal selectiva de CXCR4 intracelular que sería susceptible, si no fuera por la presencia de dicho agente, de ser generada o propagada en condiciones fisiológicas. De este modo, dicho inhibidor se define en la reivindicación 1.

Tales agentes pueden comprender, por ejemplo y sin limitación, componentes macromoleculares oligonucleotídicos. El término de referencia "péptido" o polipéptido representa un compuesto que puede incluir una cadena de dos o más aminoácidos de origen natural o no natural modificados o no modificados unidos por al menos un enlace

peptídico. Un péptido también puede consistir en, consistir esencialmente en o comprender un peptidomimético. Según se utiliza en la presente memoria, el término "peptidomimético" se utiliza en sentido amplio para representar una molécula de tipo péptido que es capaz de servir como modelo para un sustrato del péptido en el que se basa estructuralmente. Dichos peptidomiméticos incluyen péptidos modificados químicamente, moléculas de tipo péptido
 5 que contienen aminoácidos de origen no natural, y peptoides, que son moléculas de tipo péptido resultantes del ensamblaje de glicinas N-sustituídas (véase, por ejemplo, Goodman y Ro, Peptidomimetics for Drug Design, en BURGER'S MEDICINAL CHEMISTRY AND DRUG DISCOVERY Vol. 1 (ed. M.E. Wolff; John Wiley & Sons 1995), páginas 803-861),

Se conocen en la técnica una variedad de peptidomiméticos que incluyen, por ejemplo, moléculas de tipo péptido
 10 que contienen un aminoácido restringido, un componente no peptídico que imita la estructura secundaria del péptido, o un isómero del enlace amídico. Un peptidomimético que contiene un aminoácido de origen no natural restringido puede incluir, por ejemplo, un aminoácido α -metilado; un α,α -diaquil-glicina o un ácido α -aminocicloalcanocarboxílico; un aminoácido No -C α ciclado; un aminoácido N α -metilado; un ácido β - o γ -aminocicloalcanocarboxílico; un aminoácido α,β -insaturado; un β , β -dimetil o β -metil-aminoácido; un 2,3-
 15 metanoaminoácido β -sustituído; un aminoácido NC \bar{o} o C α -C \bar{o} ciclado; o un mimético de prolina u otro aminoácido sustituido.

Además, un peptidomimético que imita la estructura secundaria de un péptido puede contener, por ejemplo, un
 20 mimético de giro β no peptídico; mimético de giro γ ; mimético de estructura en lámina β ; o mimético de estructura helicoidal, cada uno de los cuales es bien conocido en la técnica. Un peptidomimético también puede ser una molécula de tipo péptido que contiene, por ejemplo, un isómero de enlace amídico tal como una modificación retro-
 inversa; un enlace amídico reducido; un enlace metilentióéter o metilensulfóxido; un enlace metilenéter; un enlace etileno; un enlace tioamídico; un enlace trans-olefínico o fluoroolefínico; un anillo de tetrazol 1,5-disustituído; un
 25 enlace cetometilénico o fluorocetometilénico u otro isómero amídico. Un experto en la técnica entiende que estos y otros componentes peptidomiméticos están incluidos en el significado del término "peptidomimético" según se utiliza en la presente memoria. El término "polipéptido" o "péptido" incluirá los peptidomiméticos a menos que se indique expresamente de otro modo. Además, se entenderá que una proteína o polipéptido consiste en, consiste
 esencialmente en, o comprende uno o más péptidos.

Un "oligonucleótido" o "ácido nucleico" de acuerdo con la presente invención puede comprender dos o más
 30 desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos de origen natural o no natural unidos por un enlace fosfodiéster, o por un enlace que imita una enlace fosfodiéster hasta un grado terapéuticamente útil. De acuerdo con la presente invención, un oligonucleótido será considerado normalmente de hebra sencilla a menos que se establezca lo contrario o resulte obvio por otra parte a partir del contexto, y un ácido nucleico puede ser de hebra sencilla o de
 doble hebra. Adicionalmente, un oligonucleótido o ácido nucleico puede contener uno o más nucleótidos
 35 modificados; dicha modificación se puede realizar con el fin de mejorar la resistencia a las nucleasas del oligonucleótido, para mejorar la capacidad de hibridación (p. ej., aumentar la temperatura de fusión o T_m) del oligonucleótido resultante, para ayudar a dirigir o inmovilizar el oligonucleótido o ácido nucleico, para una mezcla de tales propósitos, o para algún otro propósito.

Tales modificaciones pueden incluir derivados de oligonucleótidos que tienen modificaciones en la base nitrogenada,
 40 incluyendo la sustitución del grupo amino de la posición 6 de la adenosina por hidrógeno para dar purina; la sustitución de oxígeno 6-ceto de la guanosina por hidrógeno para dar 2-amino purina, o por azufre para dar 6-tioguanosina, y la sustitución del oxígeno 4-ceto de la timidina con azufre o hidrógeno para rendir, respectivamente, 4-tiotimidina o 4-hidrotimidina. Todos éstos análogos de nucleótidos se pueden utilizar como reaccionares para la síntesis de oligonucleótidos. Otras bases sustituidas son conocidas en la técnica. Véase, p. ej., Cook et al.,
 45 Publicación Internacional Núm. WO 92/02258, titulada "Nuclease Resistant, Pyrimidine Modified Oligonucleotides that Detect and Modulate Gene Expression". Los derivados de nucleótidos con bases modificadas se pueden obtener comercialmente para la síntesis de oligonucleótidos.

De un modo similar, se ha informado sobre numerosos derivados de nucleótidos que tienen modificaciones del
 radical ribofuranosilo o desoxirribofuranosilo. Véanse, p. ej., Cook et al., Publicación Internacional Núm. WO
 50 94/19023, titulada "Cyclobutyl Antisense Oligonucleotides, Methods of Making and Use Thereof"; McGee et al., Publicación Internacional Núm. WO 94/02501, titulada "Novel 2'-O-Alkyl Nucleosides and Phosphoramidites Processes for the Preparation and Uses Thereof"; y Cook, Publicación Internacional Núm. WO 93/13121, titulada "Gapped 2'-Modified Oligonucleotides." Por ejemplo, los grupos 2'-amino, 2'-C-allilo, 2'-fluoro, 2'-O-metilo, y 2'-H
 tienden a conferir resistencia a las nucleasas y a permitir la hibridación entre el nucleótido modificado y un nucleótido
 no alterado en la hebra recocida.

55 Las mayor parte de los oligonucleótidos que comprenden dichas bases modificadas han sido formulados teniendo presente un aumento de la absorción celular, la resistencia a nucleasas, y/o un incremento en la unión al sustrato. En otras palabras, dichos oligonucleótidos se describen como agentes moduladores de los genes terapéuticos.

Los ácidos nucleicos que tienen residuos de nucleótidos modificados existen en la naturaleza. De este modo,
 60 dependiendo del tipo o fuente, las bases modificadas del ARN pueden incluir bases metiladas o dimetiladas, bases desaminadas, bases carboxiladas, bases tioladas y bases que tienen diferentes combinaciones de estas

modificaciones. Adicionalmente, se sabe que las bases alquiladas en 2'-O están presentes en ácidos nucleicos de origen natural. Véase p. ej., Adams et al., *The Biochemistry of the Nucleic Acids* (11ª ed 1992).

Secuencias de Aminoácidos y Nucleótidos de CXCR4

5 No se pretende que la siguiente descripción sea una lista exclusiva de formas peptídicas o de ácidos nucleicos de CXCR4 o sus inhibidores, sino que se proporciona para mejorar la descripción proporcionada en otro lugar, tal como, por ejemplo, en las publicaciones enumeradas.

Se han determinado las secuencias de aminoácidos de CXCR4 humano y son de dominio público. Se han determinado las secuencias de aminoácidos de CXCR4 humano y son de dominio público. La siguiente secuencia de CXCR4 humano tiene el número de acceso NCBI P61073. Todas las secuencias de aminoácidos mostradas son desde el extremo N al extremo C, y todas las secuencias de nucleótidos mostradas son desde 5' a 3', a menos que se indique de otro modo. megisiytsd nYTEemgsd ydsMkepCfR eEanfnkif lptiysiifl tGivnglvi lvmgyqklr smtdkyrlhl svadllfvit lPfwavdava nwyfgnflck avhviytvnl yssvllafi sdrilaivh atnsqrprkl laekvvygv wipalltip ddfanvsea ddryicdrfy pndlwwvfvq fqhimvgllilo pgiiviscyc iisklshsk ghqkrkalkt tvililaffa cwlpyyigis idsfilleii kqgcefentv hkwisiteal affhcclnpi lyafllgakfk tsaqhaltensv srgsskils kgkrghssv stesesssfh ss SEQ ID NO: 1

15 Las secuencias de ADNc de CXCR4 humano son las siguientes.

ADNc de CXCR4 - Variante 1:

```

ttttttct tccctctagt gggcggggca gaggagtag ccaagatgtg actttgaac
cctcagcgtc tcagtgccct ttgttctaa acaagaatt ttgaattgg ttctacaaa
gaaggataa atgaagtcac tatgggaaa gatggggagg agagttgtag gattctacat
taattctct gtgcccttag cccactact cagaatttc tgaagaaagc aagcctgaat
tggtttta aattgctta aaaattttt ttaactgggt taatgctgc tgaattgaa
gtgaatgtcc atccttgc ctccttgca gatataact tcagataact acaccgagga
aatgggctca ggggactatg actccatgaa ggaaccctgt tccgtgaag aaaatgctaa
ttcaataaa atcttcctgc ccaccatcta ctccatcctc tcttaactg cattgtggg
caatggattg gtcactctgg tcatgggta ccagaagaaa ctgagaagca tgacggaca
gtacaggctg cacctgtcag tggccgacct cctcttgc atcacgctc cctctgggc

```

```

agtgatgcc gtggcaaact ggtacttgg gaacttcta tgcaaggcag tcatgtcat
ctacacagtc aaccttaca gcagtgtcct catctggcc tcatcagtc tggaccgcta
cctggccatc gtccacgcca ccaacagtca gaggccaagg aagctgttg ctgaaaaggt
ggctatgtt ggcgtctgga tccctgccct cctgctgact attccgact tcatcttgc
caacgtcagt gaggcagatg acagatata ctgtgaccgc ttctaccca atgactgtg
gggtgtgtg tccagttc agcacatcat ggtggcctt atcctgctg gtattgtcat
cctgctctg tattgatta tcatctcaa gctgtcacac tccaaggcc accagaagcg
caaggccctc aagaccag tcatctcat cctggcttc tgcctgtt ggctgctta
ctacattggg atcagatcg actcctcat cctcctggaa atcatcaagc aagggtgtga
gfttgagaac actgtgcaca agtggattc catcaccgag gccctagct tctccactg
ttgtctgaa cccatctct atgcttctc tggagccaaa ttaaaacct ctgccagca
cgcactcacc tctgtgagca gagggtccag cctcaagatc ctctcaaag gaaagcgagg
tggacattca tctgttcca ctgagtctga gcttcaagt ttacttcca gtaaacag
atgtaaaaga ctttttita tacgataaat aactttttt taagttacac attttcaga
tataaaagac tgaccaatat tgtacagttt ttattgctg ttggatttt gtctgtgtt
tctttagtt ttgtgaagtt taattgactt attatataa atttttttg ttcatattg
atgtgtgtct aggcaggacc tgtggccaag ttcttagttg ctgtatgtct cgtggtagga
ctgtagaaaa ggaactgaa cattccagag cgtgtagtga atcacgtaa gctagaaatg
atcccagct gttatgcat agataatctc tccattccg tgaacgttt ttctgttct
taagacgtga tttgtctga gaagatggca cttataacca aagcccaaag tggtagaa
atgctggtt ttacttttc aggagtgggt tgatttcagc acctacagtg tacagtctg
tattaagttg ttaataaaag tacatgttaa acttaaaaaa aaaaaaaaaa aa

```

SEQ ID NO: 2

20 Número de Acceso Genbank MN_001 008540 (9 de Diciembre, 2005).

Este ADNc codifica una proteína CXCR4 que tiene una secuencia de aminoácidos más larga que el CXCR4 mostrado en el SEQ ID No: 1. Se encuentran codones de inicio en marco (+2) en las posiciones 131 a 152, con un codón de parada en la posición 220. Se encuentra un codón de inicio adicional en la posición 305, en cuyo punto la

secuencia de nucleótidos sigue siendo idéntica a la del SEQ ID No. 3, mostrada más abajo, que codifica el SEQ ID No. 1. Se encuentran otros codones de inicio en marco en las posiciones 362, 386, 506, 530, y 929. El codón de inicio actualmente preferido en esta porción del marco está localizado en la posición 1372. Dadas estas características, se describe y sugiere un género de posibles isoformas en esta descripción, que tiene diferentes extremos 5' pero con cada uno de los extremos C terminados en los aminoácidos SSFHSS.

ADNc de CXCR4 Humano - Variante 2:

En esta secuencia variante de CXCR4, el codón de inicio ATG que codifica el SEQ ID NO: 1 empieza en el residuo 96 y continúa hasta el residuo 1151. La región no traducida 5' y el extremo N de la proteína traducida son diferentes de la de la secuencia de ADN, y la respectiva proteína codificada por el SEQ ID No: 2, pero comenzando por el residuo 6 de la proteína codificada por este ADNc (correspondiente al residuo del nucleótido 108), de nuevo las secuencias de aminoácidos son idénticas.

```
aacttcagtt tgttggctgc ggcagcaggt agcaaagtga cgccgagggc ctgagtgctc
cagtagccac cgcatctgga gaaccagcgg ttacatgga ggggatcagt atatacactt
cagataacta caccgaggaa atgggctcag gggactatga ctccatgaag gaaccctgtt
tccgtgaaga aaatgctaatt tcaataaaa tcttctgcc caccatctac tccatcatct
tcttaactgg cattgtgggc aatggattgg tcatctggt catgggttac cagaagaaac
tgagaagcat gacggacaag tacaggctgc acctgtcagt ggccgacctc ctctttgtca
tcacgcttcc cttctgggca gttgatgccg tggcaaactg gtactttggg aacttctat
gcaaggcagt ccatgtcctc tacacagtca acctctacag cagtgtctc atcttggctt
tcatcagttt ggaccgctac ctggccatcg tccacgccac caacagtcag aggccaagga
agctgttggc tgaaaagggtg gtctatgttg gctgtggat ccctgccctc ctgctgacta
tcccgactt catctttgcc aacgtcagtg aggcagatga cagatatc tgtgaccgtt
tctaccccaa tgactgttg gtggtgtgt tccagttca gcacatcatg gttggcctta
tctgcttggt tattgtctc ctgtctgct attgcattat catctccaag ctgtcacact
ccaaggcca ccagaagcgc aaggccctca agaccacagt catctctc ctgtgcttct
tgcctgttg gctgcttac tacattggga tcagcatcga ctcttctc ctctggaaa
tcatcaagca aggggtgag tttgagaaca ctgtgcaca gtggattcc atcaccgagg
ccctagcttt ctccactgt tctctgaacc ccatctctca tgccttctt ggagccaaat
ttaaaccctc tgcccagcac gcactcacct ctgtgagcag agggctcagc ctcaagatcc
tctccaaagg aaagcagagg ggacattcat ctgtttccac tgagtctgag tcttcaagtt
ttcactccag ctaacacaga tgtaaagac ttttttat acgataaata actttttt
aagttacaca ttttcagat ataaaagact gaccaatatt gtacagttt tattgctgtt
tggattttg tctgtgttt cttagtttt tgtgaagttt aattgactta tttatataa
ttttttgt tcatattga tgtgtgcta ggcaggacct gtggccaagt tcttagttgc
tgtatgtctc gtgtaggac ttagaaaag ggaactgaac attccagagc gtgtagttaa
tcagtaaag ctagaaatga tcccagctg tttatgcata gataatctct ccattcccgt
ggaacgtttt tctgttctt aagacgtgat tttgctgtag aagatggcac ttataccaa
agcccaaagt ggtatagaaa tctgtgtttt tcagtttca ggagtgggtt gatttcagca
cctacagttg acagtctgt attaagttgt taataaaagt acatgttaa cttaaaaaaa
aaaaaaaaa a
```

SEQ ID NO: 3

Número de Acceso Genebank MN_003467 (9 Diciembre, 2005).

A partir del 25 de Noviembre, de 2005 el Centro Nacional para la Información de Biotecnología (NCBI) mantuvo un catálogo en internet de NCBI disponible para el público de 1125 entradas de secuencias de aminoácidos recogidas de diferentes especies relacionadas con CXCR4.

Secuencias de Aminoácidos y Nucleótidos de SDF-1

En numerosos informes el primer residuo del SDF-1 maduro es el residuo de lisina, correspondiente a la posición 21 del SEQ ID NO: 4, 5, y 6 de las siguientes secuencias de aminoácidos de SDF-1. Se ha demostrado que el siguiente residuo de prolina es importante para la actividad de SDF-1, ya que la sustitución de este residuo, por ejemplo, por glicina conserva la actividad de unión de CXCR4 a la vez que convierte SDF-1 en un antagonista de CXCR4. Véase también Crump et al., The EMBO J. 16:6996-7007 (1997), incorporado en la presente como referencia en su totalidad. SDF-1 α humano mnakvvvlv lvltalclsd gkpvslyrc pcrffeshva ranvkhkilo ntpncalqiv arlknnrqv cidpklkwiq eilekalnk SEQ ID NO: 4 Número de acceso NCBI: NP_954637 (25 Noviembre, 2005) SDF-1 β humano mnakvvvlv

ES 2 385 924 T3

lvltalclsd gkpvslsyrp pcrffeshva ranvkhkilo ntpncalqiv arlknrrqv cidpklkwiq eilekalnr fkm SEQ ID NO: 5 Número de acceso NCBI: NP_000600 (25 Noviembre, 2005) SDF-1y humano mnakvvvvlv lvltalclsd gkpvslsyrp pcrffeshva ranvkhkilo ntpncalqiv arlknrrqv cidpklkwiq eilekalng rreekvkge kigkkkrqkk rkaaqrkn SEQ ID NO: 6 Número de acceso NCBI: NP_001029058 (25 Noviembre, 2005) Secuencias de ADNc de SDF-1 Variante 1 de ADNc de SDF-1 (SDF-1 α)

5

```
gcactttcac tctccgtcag ccgcattgcc cgctcggcgt ccggcccccg acccgcgctc
gtccgcccgc ccgcccgcc gcccgcgcca tgaacgcca ggtcgtggtc gtgctggtcc
tcgtgctgac cgcgctctgc ctcagcgcag ggaagcccgt cagcctgagc tacagatgcc
catgccgatt ctcgaaagc catgttgcca gagccaacgt caagcatctc aaaatttca
acactccaaa ctgtgccctt cagattgtag cccggctgaa gaacaacaac agacaagtgt
gcattgacct gaagctaaag tggattcagg agtacctgga gaaagctta aacaagtaag
cacaacagcc aaaaaggact tccgctaga cccactcgag gaaaactaaa acctgtgag
agatgaaagg gcaagacgt gggggagggg gccttaacca tgaggaccag gtgtgtgtgt
ggggtgggca cattgatctg ggatcgggcc tgaggttgc cagcattag acctgcatt
tatagcatac ggtatgatat tgcagcttat atcatccat gcctctgacc tgtgcacgtt
ggaactttta ttactgggtt tttctaaga aagaaattgt attatcaaca gcattttca
gcagttagtt cctcatgat catcaaatc atcatcttc tcattctcat ttttaaatc
aacgagtact tcaagactgt aattggctt gttggagca tctctctgc tcccctgggg
agtctgggca cagtcagggt gtggctaac agggagctgg aaaaagtgtc ctttctcag
acactgagcc tcccgagca gcgcccctcc caagaggaag gcctctgtgg cactcagata
ccgactgggg ctgggcgccc cactgcctt cacctctct tcaacctca gtgattggct
ctgtgggctc catgtagaag cactattac tgggactgtg ctcagagacc cctctcccag
ctattctac tctctcccg actccgagag catgctaat ctgcttctg ctctcattt
ctgtagcctg atcagcgccc caccagccgg gaagaggggtg atgtctgggg ctgctgccct
gcacccctct cctcccagg cctgcccac agctcgggcc ctctgtgaga tccgtcttg
gcctctcca gaatggagct ggccctctcc tggggatgtg taatggccc cctgcttacc
cgcaaaagac aagtcttac agaatacaat gcaattttaa atctgagagc tgcctttgag
tgactgggtt ttgtgattgc ctctgaagcc tatgtatgcc atggaggcac taacaaactc
tgaggttcc gaaatcagaa gcgaaaaaat cagtgaataa accatcatct tgccactacc
cccctcgaa gccacagcag ggttcagggt tccaatcaga actgttgcca aggtgacatt
tccatgata aatgcgatcc acagaagggt ctgggtgtat ttgtaacttt ttgcaaggca
ttttttata tatattttg tgcacatttt ttttacgtt tcttagaaa acaaatgtat
ttcaaaatat atttatagtc gaacaattca tatattgaa gtggagccat atgaatgtca
gtagttata ctctctatt atctcaaact actggcaatt tgaagaaa tatatatgat
atataaatgt gattgcagct ttcaatgtt agccacagtg tattttica ctgtactaa
aattgatca aatgtgacat tatatgact agcaataaaa tgctaattgt tcatggtat
aaacgtccta ctgtatgtg gaattattt acctgaata aattcatta gttgttagtg
atggagctta aaaaaaa
```

SEQ ID NO: 7

Número de Acceso Genebank MN-099068 (9 Diciembre, 2005) Variante 2 de ADNc de SDF-1 (SDF-1 β)

gcactttcac tctccgtcag ccgcattgcc cgctcggcgt ccggcccccg acccgcgctc
 gtccgcccgc ccgcccgcc gcccgcgcca tgaacgcca ggtcgtggtc gtgctggccc
 tctgtctgac cgcgctctgc ctacgcgacg ggaagcccgt cagcctgagc tacagatgcc
 catgccgatt ctccgaaagc catgttgcca gagccaacgt caagcatctc aaaatttca
 acaactccaaa ctgtgccctt cagattgtag cccggctgaa gaacaacaac agacaagtg
 gcattgacc gaagctaaag tggattcagg agtacctgga gaaagctta aacaagaggt
 tcaagatgtg agagggcag acgcctgagg aaccctaca gtaggagccc agctctgaaa
 ccagtgttag ggaagggcct gccacagcct cccctgccag gccagggccc caggcattgc
 caagggcttt gtttgacaca ctttgccata tttcaccat ttgattatgt agcaaaaatac
 atgacattta ttttcattt agtttgatta ttcagtgtca ctggcgacac gtgacagctt
 agactaaggc cattattgta ctgccttat tagagtgtct ttccacggag ccactcctct
 gactcagggc tctcgggttt tgtattctct gagctgtgca ggtggggaga ctgggctgag
 ggagcctggc cccatggta gccctagggg ggagagccac caagagggac gcctgggggt
 gccaggacca gtcaacctgg gcaaaagccta gtgaaggctt ctctctgtgg gatgggatgg
 tggagggcca catgggaggc tcaccccctt ctccatccac atgggagccg ggtctgcctc
 ttctgggagg gcagcagggc tacctgagc tgaggcagca gtgtgaggcc agggcagagt
 gagaccagc cctcatcccg agcacctcca catcctccac gttctgctca tcattctctg
 tctcatccat catcatgtgt gtccacgact gtctccatgg ccccgcaaaa ggactctcag
 gaccaaaagct tcatgtaaa ctgtgcacca agcaggaaat gaaaatgtct tgtgtacct
 gaaaacactg tgcacatctg tctctgttt ggaatattgt ccattgtcca atcctatgtt
 tttgtcaaaa gccagcgtcc tctctgtga ccaatgtctt gatgcatgca ctgttcccc
 tgtgcagccg ctgagcgagg agatgtctct tgggcccctt gagtgcagtc ctgatcagag
 ccgtgtctct ttgggtgaa ctacctgtgt tccccactg atcacaaaaa catggtgggt
 ccatgggag agcccaagg aattcgggtg gcaccagggg tgaccccaga ggattgtctg
 cccatcagtg ctcccacaca tctcagctacc ttcaaactag ggccaagccc agcactgctt
 gaggaaaca agcattcaca actgttttt ggttttaaa acccagtcca caaaaataacc
 aatcctggac atgaagattc tttccaatt cacatctaac ctcatctctc tcaccattg
 gcaatgccat catctctctgc ctccctctg ggccctctct gctctgcgtg tcacctgtc
 ttcgggccc tcccacagga cattctctc agagaacaat gtgctatgtg aagagtaagt
 caacctgcct gacatttga gtgttcccct tccactgagg gcagtcgata gagctgtatt
 aagccactta aatgttcac tttgacaaa ggcaagcact tgggggttt tgtttgtt
 tcattcagc ctacgaata ctttgccct ttgattaaag actocagta aaaaaattt
 taatgaagaa agtggaaaac aaggaagtca aagcaaggaa actatgtaac atgtaggaag
 taggaagtaa attatagta tgaatcttg aattgtaact gttctgaaat ttaataatct
 gtagggtaat tagtaacatg tgttaagtat ttcataagt attcaaatt ggagcttcat
 ggcagaaggc aaacctatca acaaaaattg tcccttaaac aaaaattaaa atcctcaatc
 cagctatgtt atattgaaaa aatagagcct gagggatctt tactagtat aaagatacag
 aacttttca aaacctttg aaattaacct ctactatac cagtataatt gagtttcag
 tggggcagtc attatccagg taatccaaga tatttataaa tctgtcacgt agaacttga

tgtacctgcc cccaatccat gaaccaagac cattgaattc ttggtgagg aaacaacat
 gaccctaaat cttgactaca gtcaggaaag gaatcatttc tatttctcct ccatgggaga
 aaatagataa gactagaaac tgcagggaaa attatttga taacaattcc tctactaaca
 atcagctcct tctggagac tgcaggagta aagcaatag cattfaaata cagtctcca
 ttgcaaggg aaaagtctct tgtaatccga atctctttt gcttccgaac tgtagtcaa
 gtgcgtccac gagctgttta ctaggatcc ctcatctgic cctccgggac ctgggtctgc
 ctctacctga cactcccttg ggctccctgt aacctctca gaggccctcg ctgccagctc
 tgtatcagga ccagaggaa ggggccagag gctcgtgac tggctgtgtg ttggattga
 gtctgtgcca cgtgtttgt ctgtgtgtg tcccctctg tccaggcact gagataccag
 cgaggaggct ccagagggca ctctgctgt tattagagat tacctctga gaaaaagg
 tccgcttga gcagagggc tgaatagcag aaggtgcac ctccccaac cttagatgt
 ctaagtctt ccatggatc ctattggacc ctccatggt gtgatcgtc gactggtgt
 atcacctgg gctccctgac tggagttga tgccttcc cagggtctac accctttcc
 agctggatga gaattgagt gctctgatcc ctctacagag ctccctgac ctattctgaa
 ggagcccat tctgggaaa tattccctag aaacttcaa atcccctaag cagaccactg
 ataaaacat gtagaaaatt tgtattttg caacctcgt ggactctcag tctctgagca
 gtgaatgatt cagtgtaaa tgtgatgaat actgtatttt gtattgtttc aattgcatc
 cccagataat tgaaaatgg tccaggagaa ggccaattcc tatacgcagc gtgctttaa
 aaataaataa gaaacaactc ttgagaaac aacaattct actttgaagt cataccaatg
 aaaaaatgta tatgcactta taatttctc aataaagttc tgtactcaaa ttagccacc
 aa

SEQ ID NO: 8

Número de Acceso Genebank MN_000609 (9 Diciembre, 2005)

Variante 3 de ADNc de SDF-1

gcacttcac tctccgtcag ccgcatggcc cgctcggcgt ccggccccc acccgcgctc
 gtccgcccgc ccgcccgcc gcccgccca tgaacgcca ggtcgtggtc gtgctggtcc
 tctgtctgac cgcgctctc ctacgcagc ggaagcccgt cagcctgagc tacagatgcc
 catgccgatt ctctgaaagc catgttgcca gagccaact caagcatctc aaaatttca
 acactccaaa ctgtgccct cagattgtag cccggctgaa gaacaacaac agacaaggt
 gcattgacc gaagctaaag tggattcagg agtacctgga gaaagcttta aacaaggggc
 gcagagaaga aaaagtgggg aaaaaagaaa agataggaaa aaagaagcga cagaagaaga
 gaaaggctgc ccagaaaagg aaaactagt tatctgccac ctcgagatgg a

5

SEQ ID NO: 9

Número de Acceso Genebank MN-001 033886 (9 Diciembre, 2005)

La traducción de SDF-1 a partir del SEQ ID NO: 2 y el SEQ ID NO: 3, y la comparación de los péptidos resultantes demuestran que la mayor parte de los dos péptidos es idéntica (hasta el residuo 89 del péptido SDR-1), los extremos C de los dos péptidos varían, teniendo el péptido traducido a partir de la Variante 2 93 aminoácidos y teniendo el péptido traducido a partir de la Variante 3 119 aminoácidos de longitud. El péptido resultante de la Variante 1 es idéntico a estos dos péptidos a lo largo de la misma región de identidad, pero termina en el residuo 89.

10

Los expertos en la técnica reconocerán que puesto que los 89 primeros aminoácidos de los SEQ ID NO: 4, 5, y 6 son idénticos, el diseño de ciertos inhibidores, tales como por ejemplo, inhibidores de ARNi, de las isoformas de SDF-1 sería rutinario a la luz de la descripción de la presente memoria.

15

Los expertos en la técnica también son conscientes de que los inhibidores pueden ser dirigidos en su totalidad o en parte a las regiones no traducidas 5' y 3' (UTR) de una o más variantes de ADNc. Es comúnmente sabido que el ARNi y los oligonucleótidos antisentido son capaces de inhibir la traducción del ARNm en la región codificante, en la UTR 5' y en la UTR 3', y se pueden elaborar moldes de ARNi que sean complementarios a estas regiones, o a regiones que unen mediante puentes estas dos regiones. Por supuesto, se puede utilizar más de un molde de ARNi, estando dirigidos diferentes loci del ARNm a la digestión de ARNm inducida por ARN y a la inhibición de la traducción.

20

Los expertos en la técnica reconocerán que la descripción de las secuencias de aminoácidos en la presente memoria proporciona una descripción escrita explícita de todas y cada una de las secuencias de nucleótidos que codifican estas secuencias de aminoácidos. Por otra parte, los expertos en la técnica reconocerán que ahora es cuestión de rutina para el experto en la técnica obtener un ácido nucleico utilizando codones seleccionados para la expresión óptima en un anfitrión dado con el fin de optimizar la producción de dichas secuencias.

25

Péptidos inhibidores de CXCR4 (aspecto de referencia)

- Los polipéptidos inhibidores de la actividad de CXCR4 pueden incluir péptidos, polipéptidos, y proteínas. En realizaciones particularmente preferidas de la invención, el agente terapéutico puede comprender una proteína, un derivado de SDF-1 modificado que comprende un anticuerpo policlonal o monoclonal, un fragmento de anticuerpo, tal como, sin limitación, un fragmento digerido con papaína de unión al antígeno como fracción monovalente (Fab) o un fragmento digerido con pepsina de unión al antígeno como fracción bivalente (F'ab₂) con una región de unión a CXCR4 (pero que carece de actividad estimuladora de CXCR4). Adicionalmente, los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos pueden ser de origen natural o diseñados genéticamente.
- Por ejemplo, el término "anticuerpos" puede incluir anticuerpos quiméricos que comprenden regiones L_c y H_c humanas y regiones L_v y H_v de otra especie, por ejemplo, de células de ratón, cabra, conejo u oveja. Preferiblemente la especie no humana es un ratón. Los anticuerpos quiméricos son útiles en el diseño de fármacos basados en anticuerpos, puesto que el uso de anticuerpos de ratón no alterados induce la producción de inmunoglobulinas humanas anti-ratón y como resultado el aclaramiento y la reducción de la eficacia.
- No obstante, los anticuerpos quiméricos, si bien tienen una inmunogenicidad reducida en comparación con el anticuerpo de roedor, no resuelven todos los problemas que existen en el uso de anticuerpos como fármacos. Por ejemplo, para minimizar la variación alotípica en las regiones constantes se puede utilizar una secuencia consenso humana que representa el alotipo más común en la población general. Se ha utilizado un ajuste adicional, denominado injerto de región determinante de la complementariedad (CDR). En este método, solamente los tres sitios de unión al antígeno (formados por las tres CDR de la cadena pesada y las tres CDR de la cadena ligera) son escindidos de los anticuerpos murinos y las regiones del ácido nucleico que codifican estas CDR han sido insertadas (o "injertadas") en un ácido nucleico codificante que codifica la región marco del anticuerpo humano.
- Otros ajustes pueden comprender lo que se ha denominado "reconstitución", "chapado" e "hiperquimerización". En la reconstitución, la región variable de roedor se compara con la secuencia consenso del subgrupo de secuencias de proteínas al cual pertenece, como se compara el marco humano con un consenso de la secuencia marco para la familia de anticuerpos a la cual pertenece. Este análisis puede identificar residuos de aminoácido que pueden ser el resultado de mutaciones durante el proceso de maduración de la afinidad; estos residuos se denominan "idiosincráticos". Incorporando los residuos humanos más comunes a estas posiciones, se pueden minimizar los problemas e inmunogenicidad resultantes de los residuos idiosincráticos.
- La humanización por hiperquimerización implica una comparación de las secuencias de la región variable que no es CDR humanas y murinas y se selecciona la que tiene la mayor homología como marco aceptor. De nuevo, los residuos idiosincráticos se sustituyen por los humanos más altamente conservados. Aquellos residuos que no son de la CDR que pueden interactuar con los residuos de la CDR se identifican y se insertan en la secuencia marco.
- El chapado implica la determinación de la conformación tridimensional de un anticuerpo murino humanizado y la sustitución de los aminoácidos de la superficie expuesta por aquellos encontrados comúnmente en los anticuerpos humanos. En la primera etapa se seleccionan las regiones variables humanas más homólogas y se comparan con las correspondientes regiones variables de ratón. En la segunda etapa, los residuos del marco de ratón que difieren del marco humano se sustituyen por los residuos humanos; solamente se cambian estos residuos totalmente o parcialmente expuestos de la superficie del anticuerpo.
- En el caso presente se puede dirigir el inhibidor deseado para que se una, por ejemplo, a una molécula de SDF-1 o una molécula receptora de CXCR4. En el primer caso un polipéptido de unión anti-SDF-1, cuando se permite que contacte con SDF-1 en un tejido o célula evitará que la molécula de SDF-1 active un receptor CXCR4 en dicho tejido o célula. De lo contrario, el inhibidor puede ser un polipéptido anti-CXCR4, tal como un antagonista o un agonista inverso de CXCR4.
- Un ejemplo de dicho inhibidor puede ser, por ejemplo, el anticuerpo anti-CXCL12/SDF-1 β comercializado por R&D Systems (614 McKinley Place NE, Minneapolis, MN 55413) con el número de catálogo AF-351-NA y descrito como una IgG anti-CXCL12/SDF-1β humano de cabra. Esta preparación de anticuerpo monoclonal fue preparada en cabras inmunizadas con CXCL12/SDF-1 β humano recombinante, derivado de E. coli purificado. Este anticuerpo se purificó primero haciendo pasar el suero de cabra sobre una columna de afinidad con SDF-1 α, y después la fracción no unida se purificó adicionalmente mediante la unión a una columna de afinidad con SDF-1 β.
- Esta preparación de anticuerpo tiene una dosis de neutralización (DN₅₀) (aquella concentración requerida para producir ½ de la inhibición máxima de la actividad de la citoquina en una línea celular sensible, cuando esa citoquina está presente a una concentración suficientemente elevada para lograr una respuesta máxima) de aproximadamente 10-30 µg/ml en presencia de 10 ng/ml de CXCL12, como análisis que mide la quimiotaxis de células BaF/3 transfectadas con CXCR4 humano.
- Además, como se ha explicado más arriba, actualmente es rutinario utilizar diferentes métodos, incluyendo sin excepción métodos de modelado por ordenador, para construir anticuerpos humanizados derivados originalmente, por ejemplo, de anticuerpos de cabra, rata, ratón, o conejo. La región variable de los anticuerpos que tiene un nivel umbral mayor de afinidad por el ARNm de CXCR4 o SDF-1 puede ser secuenciada y utilizada para proporcionar la

base para un anticuerpo o un derivado de anticuerpo terapéutico. Véanse p. ej., Hodxie et al., Patente de los Estados Unidos Núm. 5.994.515 (que describe anticuerpos dirigidos contra CXCR4); Mueller et al, Patente de los Estados Unidos Núm. 6.949.243 (que describe preparaciones de anticuerpo que tienen actividad anti-CXCR4 y anti SDF-1); Plaskin et al, Publicación de Patente de los Estados Unidos Núm. 2005/0266009 (que describe anticuerpos dirigidos contra CXCR4.)

Los derivados de SDF-1 que carecen de actividad estimuladora de CXCR4 han sido descritos, p. ej., por Clark-Lewis et al., en la Patente de los Estados Unidos 6.875.738 (que describe derivados de SDF-1 α y SDF-1 β inhibidores de CXCR4). Huang et al., Publicación de los Estados Unidos Núm. 2003/0220482 describe péptidos anti-CXCR4 derivados de la Proteína II Inflamatoria de Macrófagos de HHV8 (herpes virus humano 8).

Otros inhibidores de CXCR4 son conocidos en la técnica. Los ejemplos son descritos, por ejemplo, por Tudan, et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2006/0014682; Clark-Lewis et al. Publicación de los Estados Unidos Núm. 2005/0265969.

Ácidos nucleicos inhibidores de CXCR4 (de la invención)

Los inhibidores de la actividad de CXCR4 también pueden comprender composiciones que contienen un componente de ácido nucleico. Tales ácidos nucleicos pueden incluir sin excepción moléculas de ARNi, tales como ARNd_h y ARNi_c.

Los ácidos nucleicos inhibidores pueden comprender, por ejemplo, un oligonucleótido de hebra sencilla suficientemente complementario a una región de un ARNm diana de manera que dicho oligonucleótido evite la traducción de dicho ARNm. En ciertas realizaciones dicha región comprende la UTR 5', el sitio de unión al ribosoma de dicho ARNm, la región codificante de dicho ARNm, y puede incluir el codón de inicio 5' de dicho ARNm. Otras dianas pueden incluir la UTR 3'.

Dicho oligonucleótido puede comprender uno o más residuos nucleotídicos modificados (tales como, sin limitación, un nucleótido alquilado en 2'O); preferiblemente dicho residuo nucleotídico modificado confiere al menos una resistencia a nucleasa o una avidez de unión más elevada. Se apreciará que según se utiliza aquí un oligonucleótido puede comprender un ácido nucleico peptídico, u otro mimético de ácido nucleico. De acuerdo con un aspecto de la presente invención, el ARNm diana es ARNm de CXCR4; de acuerdo con otro aspecto el ARNm diana es un ARN de SDF-1.

Además de los oligonucleótidos antisentido, otro ácido nucleico inhibidor puede comprender un componente de ARNi. El ARNi es un ARN inhibidor. La restricción de ácidos nucleicos foráneos tales como virus y elementos transponibles (transposones) por medio de mecanismos de ARNi es un fenómeno inherente y de origen natural en muchas plantas, vertebrados e invertebrados, y constituye un "sistema inmunitario" a nivel genético. El ARNi es un fenómeno en el cual un ARN de doble hebra (ARNd_h) cuya secuencia está relacionada con un ARNm específico puede ocasionar una degradación selectiva de ese ARN.

Un aspecto del mecanismo del ARNi implica una molécula de ARN de doble hebra (ARNd_h) que es escindida en el interior de la célula por una enzima denominada "Dicer", dando como resultado fragmentos del ARNd_h original que comprenden de alrededor de 21 a alrededor de 23 nucleótidos de longitud, o que consisten en un fragmento de ARN de doble hebra de 21 a 23 nucleótidos de longitud. Estos fragmentos de ARN de interferencia cortos (ARNi_c) tienen un fosfato 5' y un hidroxilo 3' y un saliente 3' que comprende normalmente 2-3 nucleótidos en cada extremo. En otros aspectos de la invención el ARNi_c se diseña y se utiliza sin un ARNd_h precursor. Ciertos aspectos pueden tener salientes más largos, que incluyen 3 o 4 nucleótidos.

El ARNi_c se asocia después con un complejo de proteína denominado complejo silenciador inducido por ARN (RISC). Este complejo comprende múltiples componentes, y es activado por ATP. Las actividades asociadas con el complejo incluyen una actividad helicasa, una nucleasa de ARNd_h y una ARN polimerasa dependiente de ARN; se ha descubierto que todas estas actividades son esenciales para el ARNi en *Drosophila*, *C. elegans*, y *Neurospora*. El ARNi_c permite que el complejo sea dirigido a un ARNm concreto. Una vez que RISC se ha unido al ARNm diana, hay una escisión independiente de ATP del ARN diana por una actividad ARNasa asociada a RISC denominada Slicer.

Se requieren relativamente pocas moléculas de ARNd_h para inducir el silenciamiento génico. De este modo, parece haber un mecanismo catalítico o de amplificación en funcionamiento. La actividad ARNasa dependiente de ARN parece producir ARNi_c secundarios por medio de un proceso de amplificación en el cual el ARNi_c original es ampliado con cebadores utilizando el ARNm diana como molde de una manera similar a la PCR.

La liberación de especies de ARN largo (ARNd_h) o corto (ARNi_c) en las células da como resultado una cierta cantidad de toxicidad por la inducción de la ruta de respuesta al estrés (también denominada respuesta de interferón) en vertebrados; sin embargo parece que el ARNi_c es más lenta al inducir toxicidad y el grado de dicha toxicidad es generalmente menos grave que el del ARNd_h. Además, la mayor parte de los estudios que demostraron la toxicidad del ARNd_h emplearon lípidos catiónicos como dispositivo de liberación. Otros métodos de liberación,

tales como aquellos que implican la síntesis de ARNdh intracelular utilizando vectores de expresión, parecen inducir el silenciamiento génico sin la inducción de la respuesta de estrés.

5 La introducción de ácidos nucleicos en las células elegidas como diana ha implicado tradicionalmente lipofección, electroporación, y microinyección. Más recientemente, se ha demostrado que sistemas de expresión de ARNi basados en vectores tales como los descritos por Lee et al., 19 NATURE BIOTECHNOLOGY 500 (Mayo, 2002); Miyagishi et al., 19 NATURE BIOTECHNOLOGY 497 (Mayo 2002) y Tuschl, 20 NATURE BIOTECHNOLOGY 446 (Mayo 2002) son capaces de producir ARNic para regular a la baja la expresión génica en células de mamífero. Estas referencias se incorporan a la presente como referencia en su totalidad.

10 Como métodos para el silenciamiento de la expresión génica de cualquiera o de ambos de CXCR4 y SDF-1, el ARNi puede ser bastante útil como agente terapéutico (un inhibidor de la actividad de CXCR4). El ARNi puede ser administrado, sin limitación, por medio de inyección en forma de ARNd o ARNic desnudo o en un liposoma, un implante, un vector de expresión, un vector viral, y similares (o una combinación de uno o más de estos métodos) dirigido al vítreo del ojo. Como el fármaco no se administra sistémicamente, se esperará menos toxicidad que para los fármacos administrados sistémicamente. Asimismo, la naturaleza catalítica o amplificada del fenómeno de silenciamiento génico descrito más arriba hace del ARNi un método terapéutico muy atractivo generalmente. Por 15 ejemplo, se requerirían relativamente pocas moléculas de ARNdh y/o ARNic para inducir un fenómeno de silenciamiento génico en cualquier tejido al cual se aplique el ARN.

Afecciones Ilustrativas Tratables por medio de la Inhibición de CXCR4 y/o SDF-1

20 Los inhibidores de la actividad de CXCR4 tienen un efecto terapéutico ocular deseado. Un efecto terapéutico ocular deseado incluye la capacidad de prevenir o reducir el grado de muerte celular ocular; por ejemplo, sin limitación, muerte celular neural o muerte de células del EPR, por ejemplo, por necrosis o apoptosis. Adicionalmente, los compuestos terapéuticos de la presente invención se pueden utilizar para evitar o disminuir el grado o la velocidad de neovascularización en el segmento posterior del ojo. Adicionalmente, los compuestos terapéuticos de la presente invención se pueden utilizar para tratar afecciones, concretamente, aunque no exclusivamente, afecciones 25 retinianas, que implican inflamación aguda o crónica en el ojo.

Tales condiciones pueden incluir, sin limitación, neuropatía macular aguda; enfermedad de Behcet; neovascularización coroidal; uveítis diabética; degeneración macular, tal como degeneración macular aguda, degeneración macular asociada con la edad no exudativa y degeneración macular asociada con la edad exudativa; edema, tal como edema macular, edema macular cistoide y edema macular diabético; coroiditis multifocal; tumores 30 oculares; trastornos retinianos, tales como oclusión venosa central retiniana, retinopatía diabética (incluyendo la retinopatía diabética proliferativa), vítreo-retinopatía proliferativa (VRP), enfermedad oclusiva arterial retiniana, enfermedad retiniana uveítica; oclusión venosa retiniana ramificada. Estas y otras afecciones se pueden agrupar como sigue:

35 **MACULOPATÍAS/DEGENERACIÓN RETINIANA:** Degeneración Macular Asociada con la Edad No Exudativa (DMAE), Degeneración Macular Asociada con la Edad Exudativa (DMAE), Neovascularización Coroidal, Retinopatía Diabética, Neuropatía Macular Aguda, Coriorretinopatía Serosa Central, Edema Macular Cistoide, Edema Macular Diabético.

40 **UVEITIS/RETINITIS/COROIDITIS:** Epiteliopatía Pigmentaria Placoide Multifocal Aguda, Enfermedad de Behcet, Retinocoroidopatía de Birdshot, Uveítis Infeciosa (Sífilis, Lyme, Tuberculosis, Toxoplasmosis), Intermedia (Pars Planitis), Coroiditis Multifocal, Síndrome Dot de Múltiples Puntos Blancos Evanescentes (MEWDS), Sarcoidosis Ocular, Escleritis Posterior, Coroiditis Serpiginosa, Fibrosis Subretiniana y Síndrome de Uveitis, Síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada.

TRASTORNOS PROLIFERATIVOS: Retinopatía Vítreo Proliferativa y Membranas Epirretinianas, Retinopatía Diabética Proliferativa, Retinopatía del Prematuro (fibroblástica retrolental).

45 **TUMORES:** Enfermedad Retiniana Asociada con Tumores, Tumores Sólidos, Metástasis Tumoral, Tumores Benignos, por ejemplo, hemangiomas, neurofibromas, tracomias, y granulomas piogénicos, Hipertrofia Congénita del EPR, Melanoma Uveal Posterior, Hemangioma Coroidal, Osteoma Coroidal, Metástasis Coroidal, Hematoma Combinado Retiniano y el Epitelio Pigmentado Retiniano, Retinoblastoma, Tumores Vasoproliferativos del Fundus Ocular, Astrocitoma Retiniano, Tumores Linfoides Intraoculares.

50 **MISCELÁNEO:** Coroidopatía Interna Puntiforme, Epiteliopatía Pigmentaria Placoide Multifocal Posterior Aguda, Degeneración Miópica Retiniana, Epitelitis Pigmentaria Retiniana Aguda, Trastornos Oculares Inflamatorios e Inmunitarios, disfunciones vasculares oculares, Rechazo de Injerto de Córnea, Glaucoma Neovascular y similares.

Los compuestos terapéuticos de la presente invención, y utilizados en ella se pueden administrar de cualquier modo adecuado para lograr eficazmente un efecto terapéutico ocular deseado. De este modo, los métodos de 55 administración pueden incluir sin limitación, tópico, intraocular (incluyendo intravítreo), transdérmico, oral, intravenoso, subconjuntival, subretiniano, o peritoneal.

Generalmente, a menudo se pueden preferir los métodos de administración tópicos e intraoculares (p. ej., intravítreo, subconjuntival y subretiniano) de los inhibidores de CXCR4 de la presente invención; ya que dichos medios de administración evitan muchas de las posibles desventajas de la administración sistémica, tales como efectos secundarios no deseados en tejidos distintos del ojo. Sin estos, y sin tener en cuenta la química concreta implicada en cada agente o clase de agente, la administración tópica puede ser inicialmente preferible desde el punto de vista de la facilidad de uso, un grado comparativamente bajo de trauma ocular, y relativamente poco riesgo asociado con el propio método de administración.

No obstante, los agentes que se aplican tópicamente a la superficie ocular pueden tener un tiempo de permanencia muy corto en la córnea. Generalmente, y dependiendo en parte de factores tales como el carácter hidrófilo, el flujo sanguíneo, la actividad específica, y la naturaleza del fármaco (tal como el tamaño, la estabilidad y la forma), la liberación tópica del fármaco puede liberar concentraciones terapéuticas del fármaco en facciones del segmento anterior tales como la córnea, la cámara anterior, el iris, el cristalino y el cuerpo ciliar del ojo, pero la liberación del fármaco en facciones del segmento posterior tales como el humor vítreo, el epitelio pigmentado retiniano, la retina y la coroides es menos eficaz. Teóricamente, el fármaco aplicado tópicamente en el ojo puede difundirse a través de la conjuntiva y la esclerótica, y después penetrar en el ojo a través de la ruta del iris o el epitelio pigmentado retiniano (EPR). Sin embargo, esto crea una longitud de la ruta de difusión muy grande y los tejidos representan una barrera considerable, con el flujo sanguíneo de la coroides y la resistencia de la conjuntiva y el EPR. En la práctica, los fármacos oftálmicos aplicados tópicamente a menudo no logran concentraciones terapéuticas eficaces en los tejidos del segmento posterior. Además, los inhibidores de CXCR4 macromoleculares aplicados tópicamente pueden, en muchos casos, ser demasiado grandes para difundirse rápidamente en el tejido del segmento posterior.

Vehículos de Formulación

Con independencia del modo o la forma de administración (p. ej., sin limitación, en solución, suspensión, crema, gel, como un agente tópico, inyectable o implantable), las composiciones terapéuticas de la presente invención se administrarán en un componente de vehículo farmacéuticamente aceptable. El agente (o los agentes) terapéutico también se puede combinar con un componente de vehículo farmacéuticamente aceptable en la fabricación de una composición. En otras palabras, una composición, tal como se describe en la presente memoria, puede comprender un inhibidor de CXCR4 y una cantidad eficaz de un componente de vehículo farmacéuticamente aceptable. En al menos una realización, el componente de vehículo tiene una base acuosa. Por ejemplo, la composición puede comprender agua.

En ciertas realizaciones tales como la colocación en el vítreo, o bajo la conjuntiva o la retina, el inhibidor de CXCR4 se administra en un componente de vehículo, y puede incluir también una cantidad eficaz de al menos uno de un componente inductor de viscosidad, un componente de resuspensión, un componente conservante, un componente de tonicidad y un componente tampón. En algunas realizaciones, las composiciones descritas en la presente memoria no incluyen componente conservante añadido. En otras realizaciones, una composición puede incluir opcionalmente un componente conservante añadido. Además, la composición puede no incluir un componente de resuspensión.

En la actualidad, la liberación subconjuntival es una posibilidad muy atractiva, ya que la difusión retiniana parece ser mayor que la observada con la liberación tópica, y la administración del fármaco no es tan traumática como la liberación intraocular (tal como la colocación o la inyección intravítrea y sub-retiniana). La liberación subconjuntival puede incluir la inyección de una solución o suspensión que contiene el inhibidor de CXCR4, y/o la administración de un implante, tal como una matriz biodegradable, que comprende, por ejemplo, un copolímero de poli-lactósido poli-glucósido diseñado para liberar el fármaco activo a lo largo de un período de tiempo pre-determinado.

No obstante, esto no quiere decir que los métodos de administración intravítrea y subretiniana no puedan ser utilizados eficazmente también. De hecho, los métodos intraoculares son el modo más directo para poner en contacto el tejido de la retina afectado con el agente terapéutico. En estos casos, como con la liberación subconjuntival, las soluciones o suspensiones líquidas, normalmente tienen una viscosidad y un índice de refracción mayores que los del agua (para evitar afectar adversamente a la viscosidad del humor vítreo y por consiguiente a la visión del paciente).

Otros métodos de liberación pueden incluir inyecciones en los tejidos musculares de la órbita o el párpado superior o inferior. Si bien estos métodos pueden en efecto ser eficaces en la liberación de los inhibidores de CXCR4 de la presente invención (concretamente en el caso de compuestos pequeños y/o lipófilos), estos métodos no son actualmente preferidos.

En realizaciones preferidas de la presente invención, las formulaciones para la administración tópica, subconjuntival, subretiniana o intraocular de los agentes terapéuticos (incluyendo, sin limitación, implantes o partículas que contienen tales agentes) incluirán preferiblemente un cantidad mayoritaria de agua líquida. Tales composiciones se formulan preferiblemente en una forma estéril, por ejemplo, antes de ser utilizadas en el ojo. El componente tampón mencionado anteriormente, si está presente en las formulaciones, está presente en una cantidad eficaz para controlar el pH de la composición. Las formulaciones pueden contener, ya sea además de, ya sea en lugar del componente tampón, al menos un componente de tonicidad en una cantidad eficaz para controlar la tonicidad o la

osmolalidad de las composiciones. De hecho, el mismo componente puede servir como componente tampón y componente de tonicidad. Más preferiblemente, las presentes composiciones pueden incluir tanto un componente tampón como un componente de tonicidad.

5 El componente tampón y/o el componente de tonicidad, si están presentes, se pueden seleccionar entre los que son convencionales y bien conocidos en la técnica oftálmica. Los ejemplos de tales componentes tampón incluyen, pero no están limitados a, tampones de acetato, tampones de citrato, tampones de fosfato, tampones de borato y similares y mezclas de los mismos. Los tampones de fosfato son particularmente útiles. Los componentes de tonicidad útiles incluyen, pero no están limitados a, sales, concretamente cloruro de sodio, cloruro de potasio, cualquier otro componente de tonicidad oftálmicamente aceptable adecuado y las mezclas de los mismos. Los componentes de tonicidad no iónicos pueden comprender polioles derivados de azúcares, tales como xilitol, sorbitol, manitol, glicerol y similares.

10 La cantidad de componente tampón empleada preferiblemente es suficiente para mantener el pH de la composición en un intervalo de alrededor de 6 a alrededor de 8, más preferiblemente de alrededor 7 a alrededor de 7,5. La cantidad de componente de tonicidad empleada preferiblemente es suficiente para proporcionar una osmolalidad a las presentes composiciones en un intervalo de alrededor 200 a alrededor de 400, más preferiblemente de alrededor 250 a alrededor de 350, mOsmol/kg respectivamente. Ventajosamente, las presentes composiciones son sustancialmente isotónicas.

15 Las composiciones de la presente invención, o utilizadas en ella, pueden incluir uno o más componentes distintos en cantidades eficaces para proporcionar una o más propiedades y/o beneficios útiles para las presentes composiciones. Por ejemplo, aunque las presentes composiciones pueden estar sustancialmente libres de componentes conservantes, en otras realizaciones, las presentes composiciones incluyen cantidades eficaces de componentes conservantes, preferiblemente tales componentes son más compatibles con, o inócuos para, el tejido en el segmento posterior del ojo en el cual se coloca la composición que el alcohol bencílico. Los ejemplos de tales componentes conservantes incluyen, sin limitación, conservantes de amonio cuaternario tales como cloruro de benzalconio ("BAC" o "BAK") y polioxámero; conservantes de biguanida tales como polihexametilenbiguanida (PHMB); metil- y etil-parabenos; hexetidina; componentes clorito, tales como dióxido de cloro estabilizado, cloritos metálicos y similares; Otros conservantes oftalmológicamente aceptables y similares y las mezclas de los mismos. La concentración del componente conservante, si lo hubiera, en las presentes composiciones es una concentración eficaz para conservar la composición, y (dependiendo de la naturaleza del conservante concreto utilizado) se encuentra a menudo y se utiliza generalmente en un intervalo de alrededor de 0,00001 % a alrededor de 0,05% (p/v) o alrededor de 0,1 % (p/v) de la composición.

20 La liberación intravítrea de agentes terapéuticos se puede lograr inyectando una composición que contiene líquido en el vítreo, o colocando sistemas de liberación de fármacos poliméricos, tales implantes y micropartículas que comprenden el agente terapéutico, tales como microesferas, o una varilla, oblea u otro implante conformado, en el vítreo. Los ejemplos de implantes biocompatibles para la colocación en el ojo han sido descritos en numerosas patentes, tales como las Patentes de Estados Unidos Nos. 4.521.210; 4.853.224; 4.997.652; 5.164.188; 5.443.505; 5.501.856; 5.632.984; 5.766.242; 5.824.072; 5.869.079; 6.074.661; 6.331.313; 6.369.116; 6.699.493; 6.726.918.

25 Se pueden utilizar métodos similares para la liberación subconjuntival o subretiniana del fármaco. Si se utiliza un implante, el implante se puede colocar (p. ej., inyectar) bajo la conjuntiva en una localización próxima a la parte posterior del ojo. Se administraría una formulación en suspensión o con una base líquida con el fin de que permaneciera bajo la membrana conjuntiva, utilizándola eficazmente como un depósito para la liberación sostenida del inhibidor de CXCR4. En cualquier caso, la liberación del inhibidor de CXCR4 tendrá lugar a lo largo de un período de tiempo y no tendrá que desplazarse alrededor de la circunferencia de la esclerótica o a través del segmento anterior tanto como tendría que desplazarse el fármaco aplicado tópicamente. Una ventaja de este modo de liberación, es que no se requiere la punción del propio ojo.

30 La colocación subretiniana de un implante implica cierto trauma en el ojo, pero no requiere la punción del globo ocular, como sucede con la inyección intravítrea. El riesgo de consecuencias graves de infección no es tan grande cuando no se pincha el vítreo.

35 Las formulaciones que contienen los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden producir utilizando mecanismos convencionales conocidos rutinariamente por los expertos en la técnica. Por ejemplo, se puede combinar un inhibidor de CXCR4 con un portador líquido. La composición se puede esterilizar o mezclar con componentes estériles. En ciertas realizaciones, tales como realizaciones sin conservantes, las composiciones pueden ser esterilizadas y envasadas en cantidades de una sola dosis. Las composiciones se pueden envasar previamente en dispensadores que se pueden eliminar después de una única administración de la dosis unitaria de la composición.

40 Las composiciones que comprenden los inhibidores de la actividad de CXCR4 se pueden preparar utilizando técnicas de combinación/procesamiento adecuadas, por ejemplo, una o más técnicas de combinación convencionales. El procesamiento de la preparación se debe seleccionar para proporcionar tales inhibidores en

implantes que tienen una forma útil para la colocación o inyección intravítrea, subconjuntival, subretiniana o periocular en ojos de seres humanos o animales.

Por ejemplo, en una realización útil se elabora una dispersión de componente terapéutico concentrada combinando el componente terapéutico con agua, y los excipientes (distintos de un componente inductor de la viscosidad) que se van a incluir en la composición final. Los ingredientes se mezclan para dispersar el componente terapéutico y después se introducen en un autoclave. Se puede adquirir un componente inductor de la viscosidad estéril o esterilizarlo mediante un procesamiento convencional, por ejemplo, filtrando una disolución diluida seguido de liofilización para producir un polvo estéril. El componente inductor de la viscosidad estéril se combina con agua para elaborar un producto concentrado acuoso. La dispersión del componente terapéutico concentrado se mezcla y se añade en forma de suspensión al producto concentrado de componente inductor de la viscosidad. Se añade agua en una cantidad suficiente (c.s.) para proporcionar la composición deseada y la composición se mezcla hasta la homogeneidad.

En una realización, se elabora una suspensión viscosa, estéril adecuada para la administración utilizando un inhibidor de la actividad de CXCR4. Un procedimiento para producir dicha composición puede comprender la formación de un gran volumen de compuesto en suspensión estéril y su carga aséptica.

Otras realizaciones de los presentes materiales se encuentran en forma de un sistema de liberación de fármaco polimérico que es capaz de proporcionar la liberación sostenida del fármaco durante períodos de tiempo prolongados después de una única administración. Por ejemplo, los presentes sistemas de liberación de fármaco pueden liberar el inhibidor de la actividad de CXCR4 durante al menos alrededor de dos semanas, o alrededor de tres semanas, o 1 mes, o alrededor de 3 meses, o alrededor de 6 meses, o alrededor de 1 año, o alrededor de 5 años o más. De este modo, dichas realizaciones de los presentes materiales pueden comprender un componente polimérico asociado con el componente terapéutico en forma de un sistema de liberación de fármaco polimérico adecuado para la administración a un paciente mediante al menos una administración intravítrea, subconjuntival, subretiniana y periocular.

El sistema de liberación de fármaco polimérico puede estar en forma de implantes poliméricos biodegradables, implantes poliméricos no biodegradables, micropartículas poliméricas biodegradables, y combinaciones de los mismos. Los implantes pueden estar en forma de varillas, obleas, láminas, filamentos, esferas y similares. Las partículas son generalmente más pequeñas que los implantes descritos en la presente memoria, y pueden tener diferentes formas. Por ejemplo, ciertas realizaciones de la presente invención utilizan partículas sustancialmente esféricas. Estas partículas pueden estar en forma de microesferas. Otras realizaciones pueden utilizar partículas configuradas al azar, tales como partículas que tienen una o más superficies lisas o planas. El sistema de liberación de fármaco puede comprender una población de tales partículas con una distribución de tamaño predeterminada. Por ejemplo, una porción principal de la población puede comprender partículas que tienen una medida del diámetro deseada.

Como se comenta en la presente memoria, el componente polimérico de los sistemas de liberación de fármaco implantables puede comprender un polímero seleccionado del grupo que consiste en polímeros biodegradables, polímeros no biodegradables, copolímeros biodegradables, copolímeros no biodegradables, y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, el componente polimérico comprende un polímero de poli(lactida-co-glicólido) (PLGA). En otras realizaciones, el componente polimérico comprende un polímero seleccionado del grupo que consiste en poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), poli(lactida-co-glicólido) (PLGA), poliésteres, poli(ortoésteres), poli(fosfazina), poli(éster fosfato), policaprolactonas, gelatina, colágeno, derivados de los mismos, y combinaciones de los mismos. El componente polimérico puede estar asociado con el componente terapéutico para formar un implante seleccionado del grupo que consiste en implantes sólidos, implantes semisólidos, e implantes viscoelásticos.

En realizaciones adicionales, el componente polimérico puede comprender cualquier material polimérico en un organismo de mamífero, derivado de una fuente natural o sintético. Algunos ejemplos adicionales de materiales poliméricos útiles para los fines de esta invención incluyen polímeros basados en carbohidratos tales como metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroximetilcelulosa hidroxipropilcelulosa, hidroxietilcelulosa, etilcelulosa, dextrina, ciclodextrinas, alginato, ácido hialurónico y quitosana, polímeros basados en proteínas tales como gelatina, colágeno y glicoproteínas, y poliésteres de hidroxiácidos tales como poliglicólido, ácido polihidroxibutírico, policaprolactona, polivalerolactona, polifosfazeno, y polioctoésteres. Los polímeros también pueden ser entrecruzados, combinados o utilizados como copolímeros en el implante. Otros portadores poliméricos incluyen albúmina, polianhídridos, polietilenglicoles, metacrilatos de polivinil-polihidroxialquilo, pirrolidona y poli(alcohol vinílico).

Algunos ejemplos de polímeros no erosionables incluyen silicona, policarbonatos, poli(cloruros de vinilo), poliamidas, polisulfonas, poli(acetatos de vinilo), poliuretano, derivados de acetato de etilvinilo, resinas acrílicas, poli(alcohol vinílico) entrecruzado y polivinilpirrolidona entrecruzada, poliestireno y derivados de acetato de celulosa.

Estos materiales poliméricos adicionales pueden ser útiles con cualquiera de los inhibidores de CXCR4 descritos en la presente memoria. Por ejemplo, y sin limitación, se pueden acoplar partículas de PLGA o PLGA a un inhibidor de

CXCR4. Este producto conjugado tripartito insoluble se erosionará lentamente con el tiempo, liberando de ese modo continuamente el inhibidor de CXCR4.

5 El inhibidor de la actividad de CXCR4 puede estar totalmente o parcialmente en forma particulada o de polvo y atrapado por una matriz polimérica biodegradable. Si está en forma particulada (por ejemplo, una forma cristalina o microcristalina), las partículas de los implantes intraoculares, subconjuntivales, o subretinianos tendrán generalmente un tamaño medio eficaz midiendo menos de alrededor de 3.000 nanómetros. Sin embargo, en otras realizaciones, las partículas pueden tener un tamaño máximo medio mayor de alrededor de 3.000 nanómetros. En ciertos implantes, las partículas pueden tener un tamaño de partícula medio eficaz de alrededor de un orden de magnitud menor de 3.000 nanómetros. Por ejemplo, las partículas pueden tener un tamaño de partícula medio eficaz de menos de alrededor de 500 nanómetros. En implantes adicionales, las partículas pueden tener un tamaño de partícula medio eficaz de menos de alrededor de 400 nanómetros, y en realizaciones aún más preferidas, un tamaño menor de alrededor de 200 nanómetros. Además, cuando tales partículas se combinan con un componente polimérico, las partículas poliméricas resultantes se pueden utilizar para proporcionar un efecto terapéutico deseado.

15 Si se formula como parte de un implante u otro sistema de liberación de fármaco, (y concretamente si no está en forma de un vector de expresión) el inhibidor de la actividad de CXCR4 puede constituir preferiblemente de alrededor de 1% a 90% en peso del sistema de liberación de fármaco. Más preferiblemente, dicho inhibidor de la actividad de CXCR4 representa de alrededor de 20% a alrededor de 80% en peso del sistema. En una realización preferida, el inhibidor de CXCR4 GD comprende alrededor de 40% en peso del sistema (p. ej., 30%-50%). En otra realización, el inhibidor de CXCR4 GD comprende alrededor de 60% en peso del sistema.

20 Los materiales poliméricos o las composiciones adecuados para su uso en los sistemas de liberación de fármacos incluyen aquellos materiales que son compatibles, p. ej., biocompatibles, con el ojo con el fin de no ocasionar una interferencia sustancial en el funcionamiento o la fisiología del ojo. Tales materiales incluyen preferiblemente polímeros que son al menos parcialmente y más preferiblemente sustancialmente completamente biodegradables o bioerosionables.

25 Además de los anteriores, los ejemplos de materiales poliméricos útiles incluyen, sin limitación, materiales derivados de y/o que incluyen ésteres orgánicos y éteres orgánicos, que cuando se degradan dan como resultado productos de degradación fisiológicamente aceptables, incluyendo los monómeros. Asimismo, pueden encontrar uso también los materiales poliméricos derivados de y/o que incluyen, anhídridos, amidas, ortoésteres y similares, como tales o combinados con otros monómeros. Los materiales poliméricos pueden ser polímeros de adición o condensación, ventajosamente polímeros de condensación. Los materiales poliméricos pueden estar entrecruzados o no entrecruzados, por ejemplo no más que ligeramente entrecruzados, estando entrecruzado por ejemplo menos de alrededor de 5%, o menos de alrededor de 1% del material polimérico. En su mayor parte, además de carbono e hidrógeno, los polímeros incluirán al menos uno de oxígeno y nitrógeno, ventajosamente oxígeno. El oxígeno puede estar presente en forma de oxi, p. ej. hidroxí o éter, carbonilo, p. ej. no oxo carbonilo, tal como éster de ácido carboxílico, y similares. El nitrógeno puede estar presente en forma de amida, ciano y amino. Los polímeros mostrados por Heller, Biodegradable Polymers in Controlled Drug Delivery, En: CRC CRITICAL REVIEWS IN THERAPEUTIC DRUG CARRIER SYSTEMS, VOL. 1, CRC Press, Boca Raton, FL 1987, págs 39-90, que describe la encapsulación para la liberación controlada de fármacos, pueden encontrar uso en los presentes sistemas de liberación de fármaco.

40 Tienen un interés adicional los polímeros de ácidos carboxílicos hidroxilifáticos, ya sean homopolímeros o copolímeros, y polisacáridos. Los poliésteres de interés incluyen polímeros de ácido D-láctico, ácido L-láctico, ácido láctico racémico, ácido glicólico, policaprolactona, y combinaciones de los mismos. Generalmente, empleando el L-lactato o D-lactato, se logra un polímero o material polimérico lentamente erosionable, mientras la erosión se intensifica sustancialmente con el racemato del lactato.

45 Entre los polisacáridos útiles se encuentran, sin limitación, alginato de calcio, y celulosas funcionalizadas, concretamente ésteres de carboximetilcelulosa caracterizados por ser insolubles en agua, y un peso molecular de alrededor de 5 kD a 500 kD, por ejemplo.

Otros polímeros de interés incluyen, sin limitación, poliésteres, poliéteres y combinaciones de los mismos que son biocompatibles y pueden ser biodegradables y/o bioerosionables.

50 Algunas características preferidas de los polímeros o materiales poliméricos para su uso en los presentes sistemas pueden incluir biocompatibilidad, compatibilidad con el componente terapéutico, facilidad de uso del polímero para elaborar los sistemas de liberación de la presente invención, una vida media en el entorno fisiológico de al menos alrededor de 6 horas, preferiblemente más de alrededor de un día, que no incrementa significativamente la viscosidad del vítreo, e insolubilidad en agua.

55 Los materiales poliméricos biodegradables que se incluyen para formar la matriz están sujetos deseablemente a la inestabilidad enzimática o hidrolítica. Los polímeros solubles en agua se pueden entrecruzar con agentes de entrecruzamiento inestables hidrolíticos o biodegradables para proporcionar polímeros insolubles en agua útiles. El

grado de estabilidad puede variar ampliamente, dependiendo de la elección del monómero, si se emplea un homopolímero o un copolímero, utilizando mezclas de polímeros, y si el polímero incluye grupos ácido terminales.

5 También es importante para controlar la biodegradación del polímero y por consiguiente el perfil de liberación ampliado de los sistemas de liberación de fármacos el peso molecular medio relativo de la composición polimérica empleada en los presentes sistemas. Se pueden incluir diferentes pesos moleculares de la misma o de diferentes composiciones poliméricas en los sistemas para modular el perfil de liberación. En ciertos sistemas, el peso molecular medio relativo del polímero oscilará de alrededor de 9 a alrededor de 64 kD, normalmente de alrededor 10 a alrededor de 54 kD, y más normalmente de alrededor de 12 a alrededor de 45 kD.

10 En algunos sistemas de liberación de fármacos, se utilizan copolímeros de ácido glicólico y ácido láctico, donde la velocidad de biodegradación se controla por medio de la proporción de ácido glicólico con respecto a ácido láctico. El copolímero más rápidamente degradado tiene cantidades más o menos iguales de ácido glicólico y ácido láctico. Los homopolímeros, o copolímeros que tienen razones distintas de la igualdad, son más resistentes a la degradación. La razón de ácido glicólico con respecto a ácido láctico también afectará a la fragilidad del sistema, donde es deseable un sistema o implante más flexible para geometrías más grandes. El % de poli(ácido láctico) en el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido glicólico) (PLGA) puede ser de 0-100%, preferiblemente alrededor de 15-85%, más preferiblemente alrededor de 35-65%. En algunos sistemas, se utiliza un copolímero PLGA 50/50.

La matriz de polímero biodegradable puede comprender una mezcla de dos o más polímeros biodegradables. Por ejemplo, el sistema puede comprender una mezcla de un primer polímero biodegradable y un segundo polímero biodegradable diferente. Uno o más de los polímeros biodegradables pueden tener grupos ácidos terminales.

20 La liberación de un fármaco a partir de un polímero erosionable es la consecuencia de numerosos mecanismos o combinaciones de mecanismos. Algunos de estos mecanismos incluyen la desorción de la superficie de los implantes, la disolución, la difusión a través de canales porosos del polímero hidratado y la erosión. La erosión puede ser masiva o superficial o una combinación de ambas. Se puede entender que el componente polimérico en este aspecto de la presente invención está asociado con el inhibidor de CXCR4 de manera que la liberación del componente terapéutico en el ojo es por medio de una o más de difusión, erosión, disolución, y ósmosis. Como se comenta en la presente memoria, la matriz de un sistema de liberación de fármaco intraocular, subconjuntival, periorcular o subretiniano puede liberar fármaco a una velocidad eficaz para la liberación sostenida de una cantidad del agente terapéutico durante más de una semana después de la implantación en el ojo. En ciertos sistemas, las cantidades terapéuticas del inhibidor de CXCR4 se liberan durante más de alrededor de un mes, e incluso durante 30 alrededor de doce meses o más. Por ejemplo, el componente terapéutico puede ser liberado en el ojo durante un período de tiempo de alrededor de noventa días a alrededor de un año después de haber colocado el sistema en el interior del ojo.

35 La liberación del inhibidor de CXCR4 desde los sistemas de liberación de fármaco que comprende una matriz de polímero biodegradable puede incluir una explosión inicial de liberación (por ejemplo, alrededor de 20%, o alrededor de 30%, o alrededor de 40%, o alrededor de 50%, o alrededor de 60%, o alrededor de 70%, o alrededor de 80% del inhibidor de CXCR4 es liberado en los 3 primeros días después de la implantación), seguido de un incremento gradual en la cantidad de inhibidor liberado, o la liberación puede incluir un retraso inicial en la liberación del inhibidor de CXCR4 seguido de un incremento en la liberación. Cuando el sistema está sustancialmente completamente degradado, el porcentaje de agente terapéutico que se ha liberado es de alrededor de cien.

40 Puede ser deseable proporcionar una velocidad de liberación relativamente constante del agente terapéutico desde el sistema de liberación de fármaco a lo largo de la vida del sistema. Por ejemplo, puede ser deseable que el inhibidor de CXCR4 sea liberado en cantidades de alrededor de 0,01 μg a alrededor de 2 μg por día durante la vida del sistema. Sin embargo, la velocidad de liberación puede cambiar aumentando o disminuyendo dependiendo de la formulación de la matriz de polímero biodegradable. Además, el perfil de liberación del inhibidor de CXCR4 puede 45 incluir una o más porciones lineales y/o una o más porciones no lineales. Preferiblemente, la velocidad de liberación es mayor de cero una vez que el sistema se ha comenzado a degradar o erosionar.

50 Los sistemas de liberación de fármacos, tales como los implantes intraoculares, pueden ser monolíticos, esto es, que tienen el agente o los agentes activos distribuidos homogéneamente por toda la matriz polimérica, o encapsulados, donde un reservorio del agente activo está encapsulado por la matriz polimérica. Debido a la facilidad de fabricación, los implantes monolíticos son normalmente preferidos a las formas encapsuladas. No obstante, el mayor control proporcionado por el implante de tipo reservorio, encapsulado puede ser beneficioso en ciertas circunstancias, en las que el nivel terapéutico del inhibidor de CXCR4 se encuentra en una ventana estrecha. Además, el componente terapéutico, incluyendo el agente o los agentes terapéuticos descritos en la presente memoria, pueden ser distribuidos en un patrón no homogéneo en la matriz. Por ejemplo, el sistema de liberación de 55 fármaco puede incluir una porción que tiene una concentración mayor del inhibidor de CXCR4 con respecto a una segunda porción del sistema.

Los implantes poliméricos descritos en la presente memoria pueden tener un tamaño entre alrededor de 5 gm y alrededor de 2 mm, o entre alrededor de 10 μm y alrededor de 1 mm para la administración con una aguja, de más de 1 mm, o más de 2 mm, tal como 3 mm o hasta 10 mm, para su administración mediante implantación. La cámara

5 vítrea (y la subconjuntiva) en seres humanos es capaz de acomodar implantes relativamente grandes de geometrías variables, que tienen longitudes, por ejemplo, de 1 a 10 mm. El implante puede ser un pélet cilíndrico (p. ej., una varilla) con dimensiones de alrededor de 2 mm x 0,75 mm de diámetro. O el implante puede ser un pélet cilíndrico con una longitud de alrededor de 7 mm a alrededor de 10 mm, y un diámetro de alrededor de 0,75 mm a alrededor de 1,5 mm.

10 Los implantes también pueden ser al menos algo flexibles con el fin de facilitar tanto la inserción del implante en el ojo, tal como en el vítreo, bajo la conjuntiva, o bajo la retina, como para la acomodación del implante. El peso total del implante es normalmente de alrededor de 250-5000 µg, más preferiblemente de alrededor de 500-1000 µg. Por ejemplo, un implante puede tener alrededor de 500 µg, o alrededor de 1000 µg. Sin embargo, también se pueden formar implantes más grandes y adicionalmente procesarlos antes de su administración en el ojo. Además, pueden ser deseables implantes más grandes en los que se proporcionan cantidades relativamente más grandes de los inhibidores de CXCR4 en el implante.

15 Se pueden preparar sistemas de liberación de fármacos en los que el centro puede ser de un material y la superficie puede tener una o más capas de la misma o diferente composición, donde las capas pueden estar entrecruzadas, o de un peso molecular diferente, una densidad o porosidad diferente, o similares. Por ejemplo, cuando es deseable liberar rápidamente un bolo inicial del inhibidor de CXCR4, el centro puede ser un polilactato recubierto con un copolímero de polilactato-poliglicolato, con el fin de aumentar la velocidad de degradación inicial. Alternativamente, el centro puede ser poli(alcohol vinílico) recubierto con polilactato, con el fin de que después de la degradación del exterior de polilactato el centro se disuelva y sea rápidamente lavado del ojo.

20 Los sistemas de liberación de fármacos pueden tener cualquier geometría adecuada para los sistemas de liberación incluyendo fibras, láminas, películas, microesferas, esferas, discos circulares, placas y similares. El límite superior para el tamaño del sistema estará determinado por factores tales como la tolerancia al sistema, las limitaciones del tamaño en la inserción, la facilidad de manipulación, etc. Cuando se emplean láminas o películas, las láminas o películas estarán en el intervalo de al menos alrededor de 0,5 mm x 0,5 mm, normalmente alrededor de 3-10 mm x 25 5-10 mm con un grosor de alrededor de 0,1-1,0 mm para facilitar la manipulación. Cuando se emplean fibras, el diámetro de la fibra estará generalmente en el intervalo de alrededor de 0,05 a 3 mm y la longitud de la fibra estará generalmente en el intervalo de alrededor de 0,5-10 mm. Las esferas pueden estar en el intervalo de alrededor de 0,5 µm a 4 mm de diámetro, con volúmenes comparables para otras partículas conformadas.

El tamaño y la forma del sistema también se pueden utilizar para controlar la velocidad de liberación.

30 Otra ruta de administración de los inhibidores de CXCR4 de la presente invención en el interior del ojo puede incluir la liberación periocular de fármacos a un paciente. Las barreras hemato-retinianas a menudo restringen la penetración de los fármacos administrados sistémicamente directamente en el segmento posterior del ojo. La barrera hemato-retiniana está separada anatómicamente en las barreras retiniana interna y externa. El movimiento de solutos o fármacos en el interior del ojo desde el espacio periocular está restringido por el epitelio pigmentado 35 retiniano (EPR), la barrera retiniana externa. Las uniones intercelulares denominadas zona ocludens o "uniones oclusivas" unen las células de este tejido. El EPR es una barrera transportadora de iones densa que restringe el transporte paracelular de solutos a través del EPR. La permeabilidad de la mayor parte de los compuestos a través de las barreras hemato-retinianas es muy baja. Sin embargo, el propio EPR posee la capacidad singular de absorber rápidamente los agentes extracelulares por medio de fagocitosis, por consiguiente este hecho favorece el transporte 40 extrasistémico hacia la retina.

Formulaciones que Contienen Inhibidores de CXCR4

Los inhibidores de CXCR4 (incluyendo vectores, oligonucleótidos y/o productos conjugados de los mismos) de la presente invención pueden ser suspendidos en una formulación viscosa que tiene una viscosidad relativamente elevada, por ejemplo una que se aproxima a la del humor vítreo. Dicha formulación viscosa comprende un 45 componente inductor de la viscosidad. Además del uso de implantes, los inhibidores de CXCR4 de la presente invención se pueden administrar de manera subconjuntival, subretiniana, o intravítrea, en forma de, sin limitación, un inyectable, una suspensión, una emulsión, una solución, un gel acuosos.

El componente inductor de la viscosidad comprende preferiblemente un componente polimérico y/o al menos un agente viscoelástico, tal como los materiales que son útiles en los procedimientos quirúrgicos oftálmicos.

50 Los ejemplos de los componentes inductores de la viscosidad útiles incluyen, pero no están limitados a, ácido hialurónico, carbómeros, poli(ácido acrílico), derivados celulósicos, policarbofilo, polivinilpirrolidona, gelatina, dextrina, polisacáridos, poli(acrilamida), poli(alcohol vinílico), poli(acetato de vinilo), derivados de los mismos y mezclas de los mismos.

El peso molecular de los componentes inductores de la viscosidad actualmente útiles puede estar en un intervalo de hasta alrededor de 2 millones de Dalton, tal como alrededor de 10.000 Dalton o menos de alrededor de 2 millones de Dalton o más. En una realización particularmente útil, el peso molecular del componente inductor de la viscosidad está en el intervalo de alrededor de 100.000 Dalton o alrededor de 200.000 Dalton a alrededor de 1 millón de Dalton o alrededor de 1,5 millones de Dalton.

5 En una realización muy útil, un componente inductor de la viscosidad es un componente de hialuronato polimérico, por ejemplo, un componente de hialuronato metálico, preferiblemente seleccionado entre hialuronatos de metales alcalinos, hialuronatos de metales alcalinotérreos y mezclas de los mismos, y aún más preferiblemente seleccionados entre hialuronatos de sodio, y las mezclas de los mismos. El peso molecular de dicho componente de hialuronato se encuentra preferiblemente en el intervalo de alrededor de 50.000 Dalton o alrededor de 100.000 Dalton a alrededor de 1,3 millones de Dalton o alrededor de 2 millones de Dalton.

10 En una realización, las presentes composiciones están constituidas por, o comprenden, un componente de hialuronato polimérico en una cantidad en el intervalo de alrededor de 0,05% a alrededor de 0,5% (p/v). En una realización útil adicional, el componente de hialuronato se encuentra presente en una cantidad en el intervalo de alrededor de 1% a alrededor de 4% (p/v) de la composición. En este último caso, el polímero de muy alta viscosidad forma un gel que ralentiza la velocidad de sedimentación de cualquier fármaco suspendido, y evita la agrupación del producto de fármaco inyectado.

15 Los inhibidores de CXCR4 de este aspecto de la invención reivindicada pueden incluir, dependiendo de sus características fisicoquímicas, cualquiera o todas las sales, profármacos, productos conjugados, o precursores de los agentes terapéuticamente útiles, incluyendo aquellos específicamente identificados en la presente memoria.

20 En ciertas realizaciones, los inhibidores de CXCR4 de la composición pueden estar constituidos por una composición que comprende más de un agente terapéutico, con tal que al menos uno de tales agentes terapéuticos sea capaz de inhibir la actividad de CXCR4. En otras palabras, el componente terapéutico de la composición puede incluir un primer inhibidor de CXCR4, un segundo inhibidor de CXCR4, o una combinación de agentes terapéuticos al menos uno de los cuales es un inhibidor de CXCR4.

25 El componente inductor de la viscosidad está presente en una cantidad eficaz para aumentar, aumentar sustancialmente ventajosamente, la viscosidad de la composición. Sin desear limitar la invención a ninguna teoría concreta de funcionamiento, se cree que el aumento de la viscosidad de las composiciones a valores bastante por encima de la viscosidad del agua, por ejemplo, al menos alrededor de 100 cps a una velocidad de cizalladura de 0,1/segundos, se obtienen composiciones que son altamente eficaces para su colocación, p. ej., inyección, en el segmento posterior del ojo de un ser humano o un animal. Junto con la colocación ventajosa o la inyectabilidad de las presentes composiciones en el segmento posterior, se cree que la viscosidad relativamente elevada de las presentes composiciones aumenta la capacidad de las presentes composiciones de la presente invención.

30 Ventajosamente, las composiciones de este aspecto de la invención tienen viscosidades de al menos alrededor de 10 cps o al menos alrededor de 100 cps o al menos alrededor de 1000 cps, más preferiblemente al menos alrededor de 10.000 cps y aún más preferiblemente al menos alrededor de 70.000 cps o más, por ejemplo hasta alrededor de 200.000 cps o alrededor de 250.000 cps, o alrededor de 300.000 cps o más, a una velocidad de cizalladura de 0,1/segundo. En realizaciones concretas las presentes composiciones no solamente tienen la viscosidad relativamente elevada indicada más arriba sino que también tienen la capacidad o están estructuradas o elaboradas con el fin de ser susceptibles de ser colocadas eficazmente, p. ej., inyectadas, en un segmento posterior del ojo de un ser humano o un animal, preferiblemente a través de una aguja de calibre 27, o incluso a través de una aguja de calibre 30.

35 Los componentes inductores de la viscosidad preferiblemente son componentes debilitadores de la cizalladura de manera que a medida que la formulación viscosa se hace pasar a través de o se inyecta en el segmento posterior del ojo, por ejemplo, a través de una apertura estrecha, tal como una aguja de calibre 27, en condiciones de alta cizalladura, la viscosidad de la composición es sustancialmente reducida durante dicho pase.

40 Se puede emplear cualquier componente inductor de la viscosidad oftalmológicamente aceptable de acuerdo con la presente invención. Muchos de dichos componentes inductores de la viscosidad han sido propuestos y/o utilizados en las composiciones oftálmicas utilizadas sobre o dentro del ojo. El componente inductor de la viscosidad está presente en una cantidad eficaz para proporcionar la viscosidad deseada a la composición. Ventajosamente, el componente inductor de la viscosidad está presente en una cantidad en el intervalo de alrededor de 0,5% o alrededor de 1,0% a alrededor de 5% o alrededor de 10% o alrededor de 20% (p/v) de la composición. La cantidad específica del componente inductor de la viscosidad empleado depende de numerosos factores incluyendo, por ejemplo y sin limitación, el componente inductor de la viscosidad específico que se está empleando, el peso molecular del componente inductor de la viscosidad que se está empleando, la viscosidad deseada para la presente composición que se está produciendo y/o utilizando y factores similares.

45 El inhibidor de CXCR4 puede ser liberado intraocularmente o subconjuntivalmente en una composición que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, un agente terapéutico que comprende un agente bioactivo (el inhibidor de CXCR4), un sustrato transportador, y un polímero biocompatible adecuado para la administración al segmento posterior del ojo. Por ejemplo, la composición puede comprender, sin limitación, un implante subconjuntival, subretiniano, o intraocular.

55 La presente invención señala generalmente composiciones para tratar el segmento posterior del ojo. Preferiblemente, el segmento posterior del ojo comprende, sin limitación, el tracto uveal, el vítreo, la retina, la

coroides, el nervio óptico, y el epitelio pigmentado retiniano (EPR). La enfermedad o afección relacionada con esta invención puede comprender cualquier enfermedad o afección asociada con la muerte celular, la inflamación, o la angiogénesis que está potenciada por la estimulación de los receptores de CXCR4, como se define en la reivindicación 1.

5 Algunos ejemplos de enfermedades o afecciones que pueden ser prevenidas o tratadas por medio de la acción de un fármaco activo en la parte posterior del ojo de acuerdo con la presente invención incluyen maculopatías/degeneración retiniana tales como edema macular, degeneración macular asociada con la edad no exudativa (DMAE), degeneración macular asociada con la edad exudativa (DMAE), neovascularización coroidal, retinopatía diabética, neurorretinopatía macular aguda, coriorretinopatía serosa central, edema macular cistoide, y
 10 edema macular diabético; uveitis/retinitis/coroiditis tal como epitelopatía pigmentaria placoide multifocal aguda, enfermedad de Behcet, retinocoroidopatía de Birdshot, inflamación de la retina, uveítis intermedia (pars planitis), coroiditis multifocal, fibrosis subretiniana y síndrome de uveítis, enfermedades vasculares/enfermedades exudativas tales como enfermedad oclusiva arterial de la retina, oclusión venosa central retiniana, coagulopatía intravascular diseminada, oclusión venosa retiniana ramificada, cambios en el fundus hipertensivo, síndrome isquémico ocular,
 15 microaneurismas arteriales de la retina, enfermedad de Coat, telangiectasia parafoveal, oclusión venosa hemirretiniana, papiloflebitis, oclusión arterial central retiniana, oclusión arterial retiniana ramificada, enfermedad de la arteria carótida CAD), angitis helada de la rama, retinopatía células falciformes y otras hemoglobinopatías, estrías angioides, vitreorretinopatía exudativa familiar, y enfermedad de Eales; afecciones traumáticas/quirúrgicas tales como oftalmía simpática, enfermedad retiniana uveítica, desprendimiento de retina, trauma, hematoma combinado
 20 retiniano y el epitelio pigmentado retiniano, retinoblastoma, tumores vasoproliferativos del fundus ocular, astrocitoma retiniano, y tumores linfoides intraoculares; y otras enfermedades misceláneas que afectan a la parte posterior del ojo tales como coroidopatía interna puntiforme, epitelopatía pigmentaria placoide multifocal posterior aguda, degeneración retiniana miópica, y epitelitis pigmentaria retiniana aguda. Preferiblemente, la enfermedad o afección es la retinopatía vítrea proliferativa (VRP), la degeneración macular asociada con la edad (DMAE), la retinopatía diabética, el edema macular diabético, el desprendimiento de retina, el edema macular, o la uveitis.

La invención se define solamente por la reivindicación 1 que finaliza esta memoria.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Transfección de células con ARNi

30 Se cultivaron en placa células ARPE 19 (Colección de Cultivos Tipo Americana (ATTC) Número CRL2302) a una densidad celular de 6×10^4 células por placa de cultivo de tejidos de 10 cm, en Medio de Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM) F12 que contenía suero bovino fetal al 10% (SBF) y solución de antibiótico/antimicótico al 1% (10.000 unidades de penicilina G (sal de sodio), 10.000 $\mu\text{g/ml}$ de sulfato de estreptomycin, y 25 $\mu\text{g/ml}$ de anfotericina B en solución salina al 0,85%) incubado a 37°C durante la noche.

35 Los oligonucleótidos de ARNi anti-CXCR4, diseñados para elaborar un ARNic de doble hebra, comprenden las siguientes secuencias:

5' AACAGUGGAAGAAAGCUAGGGGCUC 3' (SEQ ID NO: 10)

5' GAGGCCCUAGCUUUCUCCACUGUU 3' (SEQ ID NO: 11)

40 Estos oligonucleótidos u oligonucleótidos de control (Stealth ARNi Negative Control Med GC (Invitrogen, Inc.)) se añadieron en 1,5 ml de medio OptiMem® (Gibco BRL) a una concentración final 25 nM. En un volumen igual separado de medio OptiMem®, se añadieron de un modo similar 15 μl de reactivo lipofectamina (Lipofectamine® 2000, Invitrogen, Inc.) a un volumen igual de medio OptiMem® y se incubaron a la temperatura ambiente durante 5 minutos.

45 Ambas soluciones se mezclaron después entre sí y se incubaron adicionalmente durante 20 minutos a la temperatura ambiente. Las células se lavaron una vez con medio OptiMem®, el volumen total de la mezcla se llevó a 10 ml con medio OptiMem® (Gibco BRL) y después se añadió a las células. Se dejó que las células se incubaran durante la noche a 37°C. A las 24 horas de la transfección, la mezcla de transfección se separó y se añadieron 10 ml de medio DMEM F12 de nueva aportación a las células.

Ejemplo 2: Análisis de Estrés/Viabilidad Celular

50 Después de la transfección de las células con el constructo de ARNic de los SEQ ID NO: 10 y 11 (Figura 1), o de los SEQ ID NO: 10-15 (Figura 3), se mantuvieron las células ARPE-19 en medio DMEM F12 que contenía SBF al 10%, y solución de antibiótico/antimicótico al 1% (10.000 unidades de penicilina G (sal de sodio), 10.000 $\mu\text{g/ml}$ de sulfato de estreptomycin, y 25 $\mu\text{g/ml}$ de anfotericina B en solución salina al 0,85%) durante 48 horas. Las células se cultivaron en placa a una densidad de 1×10^4 células por pocillo de 100 μl en una placa de 96 pocillos y se incubaron durante la noche a 37°C y CO₂ al 5%. Al día siguiente las células se lavaron dos veces con DMEM F12
 55 que contenía SBF al 0,1% y solución de antibiótico/antimicótico al 1% (10.000 unidades de penicilina G (sal de sodio), 10.000 $\mu\text{g/ml}$ de sulfato de estreptomycin, y 25 $\mu\text{g/ml}$ de anfotericina B en solución salina al 0,85%).

Después de lavar, las células se privaron de alimento durante 24 horas en el mismo medio, a 37°C durante 24 horas. Después de este período de tiempo, las células se expusieron a hidróperóxido de terc-butilo (t-BH) a una concentración final 300 µM durante 6 horas. Las células se lavaron después dos veces con medio DMEM F12 que contenía SBF al 0,1% y solución de antibiótico/antimicótico al 1% (10.000 unidades de penicilina G (sal de sodio), 10.000 µg/ml de sulfato de estreptomina, y 25 µg/ml de anfotericina B en solución salina al 0,85%). Se añadió medio de nueva aportación y las células se incubaron adicionalmente en un volumen de 100 µl a 37°C durante un total de 24 horas desde el inicio del tratamiento con t-BH.

Se midió la viabilidad celular utilizando el análisis WST (Chemicon International, Inc.) de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes. El análisis WST se basa en la escisión de la sal de tetrazolio WST-1 a formazano por medio de deshidrogenasas mitocondriales celulares. La expansión en el número de células viables da como resultado un incremento en la actividad global de las deshidrogenasas mitocondriales en la muestra. Un incremento en la actividad enzimática debido a un mayor número de células conduce a un incremento en la cantidad de colorante de formazano formado. De este modo, el colorante de formazano producido por las células viables se puede cuantificar por medio de un espectrofotómetro de múltiples pocillos (lector de microplaca) midiendo la absorbancia de la solución de colorante a 440 nm.

En este caso, se añadieron 10 µl de reactivo WST-1 a cada pocillo después de 24 horas. Se determinó que el tiempo de revelado del análisis óptimo era de 1,5 horas. Después las placas se leyeron en un lector de placa Spectramax M2® a 450 nm.

Para aislar el ARN de las células, se añadió 1 ml de Qiazol® (un tampón de lisis inhibitor de ARNasa basado en fenol/isotiocianato de guanidinio comercializado por Qiagen, Inc.) a las células ARPE-19 y después se rasparon los productos lisados en tubos de 2 ml. A continuación se añadieron 200 µl de cloroformo por ml de Qiazol®, los tubos se mezclaron y se centrifugaron a 12.000 x g durante 15 minutos a 4°C. La fase acuosa se separó y se aplicó a una columna RNeasy® mini (Qiagen), se lavó y la columna se hizo eluir con agua. Se utilizaron cinco microgramos del producto eluido para las siguientes reacciones de RT-PCR. Las reacciones de RT-PCR se llevaron a cabo utilizando el Stratascript® First Strand Synthesis System (Stratagene). El ARN se desnaturizó a 65°C durante 5 minutos, se enfrió a la temperatura ambiente durante 10 minutos y después se incubó a 42°C durante 60 minutos con transcriptasa inversa.

Se realizó una PCR cuantitativa utilizando 5 µl de ADNc generado mediante RT-PCR. Se utilizó el análisis Platinum qPCR Supermix®-UDG (Invitrogen) para la amplificación. La reacción PCR se llevó a cabo durante 45 ciclos utilizando las siguientes condiciones: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 2 minutos, 95°C durante 15 segundos, 60°C durante 45 segundos. Se utilizó GAPDH para normalizar los niveles de expresión. Las reacciones y los análisis se llevaron a cabo utilizando un ABI Prism 7700 Sequence Detector.

Ejemplo 3: Matriz de Genoma Completo

Se utilizó una matriz de oligonucleótidos de ADN del genoma humano completo (Agilent Technologies, matriz G4112A) para hibridar con muestras de ARN preparadas a partir de las células ARPE-19 tratadas con t-BH. Este formato de portaobjetos de 44K contiene una colección de oligonucleótidos de 60 unidades con secuencias que representan genes y transcritos humanos de más de 41 K.

Se realizó el marcaje con ARN utilizando el kit Low RNA Input Fluorescent Linear Amplification (LIK®) de Agilent Technologies (núm. 5184-3523) siguiendo las recomendaciones de los fabricantes. En resumen, se sometieron a transcripción inversa 200 ng de ARN total de las células ARPE-19 aisladas como se describe en el Ejemplo 2 en un volumen de 20 µL utilizando 1µL de transcriptasa inversa del Virus de la Leucemia Murina de Moloney (MMLV-RT) y 1,2 µL de cebador promotor de T7 en 1 x Tampón de la Primera Hebra a 40°C durante 2 horas. A partir de la preparación de ADN de doble hebra, se prepararon la transcripción y el marcaje directo en 80 µL a 40°C durante 2 horas utilizando 0,8 µL de ARN polimerasa de T7, 0,6 µL de pirofosfatasa inorgánica, 2,4 µL de cada Cy-colorante-CTP a 10 mM (PerkinElmer/NEN Life Sciences Cyanine-3-CTP núm. NEL580 y Cyanine-5-CTP núm. NEL581) en solución de PEG al 4% y 1X Tampón de transcripción. Los colorantes de cianina son colorantes fluorescentes altamente sensibles.

El ARNc amplificado y marcado se purificó en mini columnas RNeasy® (Qiagen, Inc.) de acuerdo con el protocolo de los fabricantes. El ARNc se cuantificó mediante la absorbancia a 260 nm, 550 nm y 650 nm. Una vez completado el marcaje, ambas muestras de ARN Cy3 y Cy5 se combinan y se hibridan con una micromatriz utilizando el Kit de Hibridación In Situ de Agilent (núm. 5184-3568) siguiendo las recomendaciones de Agilent.

Brevemente se combinan 750 ng de ARNc amplificado linealmente marcado con cianina 3 y 750 ng de ARNc amplificado linealmente marcado con cianina 5 con 1X dianas de control, 0,5X tampón de fragmentación. Esta solución diana 2X se desnaturiza a 60°C durante 30 minutos y se añade 1x tampón de hibridación en un volumen final de 500 µL para terminar la reacción de fragmentación.

La solución diana se dispensa después sobre la micromatriz 44K. El tiempo de incubación fue de 17 horas a 60°C en un horno de hibridación con rotación a 4 rpm (Agilent Technologies núm. G2545A). Los lavados se realizaron durante 5 minutos en 6X SSPE, N-lauroil sarcosina al 0,005% a la temperatura ambiente, después durante 5

minutos en 0,06X SSPE, N-lauroil sarcosina al 0,005% a la temperatura ambiente, y finalmente durante 30 segundos en Solución de Estabilización y Secado Agilent®. Los portaobjetos secos se escanearon utilizando un escáner de micromatrices.

5 La Figura 1 demuestra la expresión del ARN de CXCR4 en células ARPE4-19 en el modelo de estrés oxidativo (exposición a t-BH durante 30 minutos, 3 horas, y 6 horas. El ARN se cosechó inmediatamente después de la exposición a t-BH, excepto que las alícuotas de células expuestas a t-BH durante 3 horas también fueron incubadas durante un total de tres horas más (3/3) o 24 horas (3/24) después de su exposición a t-BH, a continuación se cosechó el ARN. Se permitió que las matrices de genoma humano completo hibridaran con el ARN aislado, utilizando células no tratadas como referencia.

10 Los resultados indican que la expresión del ARN de CXCR4 aumenta rápidamente en células expuestas a estrés, con un incremento de 20 veces en dicha expresión inmediatamente después de la exposición de tres horas a t-BH, y 30 veces la expresión sobre la referencia inmediatamente después de una incubación de seis horas con t-BH. Casi no existe reducción en la expresión de CXCR4 en las células expuestas a t-BH durante tres horas después de tres horas más de incubación en medio sin t-BH, pero se puede observar un descenso de aproximadamente 35% en el
15 ARN de CXCR4 en las células expuestas a t-BH durante tres horas tras una incubación adicional de veinticuatro horas en medio sin t-BH, en comparación con los niveles presentes inmediatamente después de la exposición a t-BH.

Adicionalmente, las células expuestas a t-BH durante 6 horas dieron como resultado la muerte celular en 24 horas. No obstante, entre las células expuestas a t-BH durante 3 horas, seguido de incubación de las células en medio que
20 no contenía t-BH, aproximadamente 70% sobrevivieron durante al menos 24 horas.

La Figura 2 demuestra que la inhibición por ARNic de la expresión de CXCR4 en células ARPE-19 inhibe la muerte celular inducida por estrés oxidativo (exposición a t-BH 300 µM) de una manera dependiente de la dosis. Se realizó un análisis de viabilidad celular WST utilizando células no sometidas a tratamiento previo o células expuestas a t-BH durante 6 horas y transfectadas con oligonucleótidos de control o con oligonucleótidos de ARNic del SEQ ID NO: 10
25 y el SEQ ID NO: 11 a 10 nM o 25 nM.

La Figura 3 muestra los resultados de un experimento en el cual se examinó la expresión de células transfectadas con ARNic **Par 1** (ARNic1; SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11), **Par 2** (ARNic2; SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13), y **Par 3** (ARNic3; SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15). Los oligonucleótidos de ARNic Par 2 y Par 3 se muestran más
abajo:

30 Par 2 5' aacaguggaagaagcuaggccuc 3' (SEQ ID NO: 12) 5' gaggccuagcuuucuccacuguu 3' (SEQ ID NO: 13)

Par 3 5' cuuggagugagacagcuuggagau 3' (SEQ ID NO: 14) 5' caucuccaagcugucacaccaag 3' (SEQ ID NO: 15)

Se aisló el ARN total de las células (no inducidas con t-BH) y se determinó la cantidad de ARN de CXCR4 mediante hibridación de la matriz génica. La cantidad de CXCR4 en las células no sometidas a tratamiento previo se normaliza como "100%". Como se muestra, todos los pares de ARNic sometidos a ensayo (Par 1, 2 y 3) reducen la expresión
35 del ARN de CXCR4 intracelular intacto en comparación con ambas células no tratadas con ARNic, o con células a las que se ha administrado un ARNic de control "no funcional". Estos resultados, combinados con los ilustrados en la Figura 2 demuestran que la apoptosis disminúa con la expresión de CXCR4 decreciente, y que el tratamiento de células que expresan CXCR4 sometidas a estrés con ARNic anti-CXCR4 restaura la viabilidad celular a niveles que se aproximan a los normales.

40 **Ejemplo 4**

Se lleva a cabo un conjunto de experimentos similar a los descritos en los Ejemplos 1-3 anteriores utilizando cada uno de los siguientes ARNic anti-CXCR4:

par 4

5' -cccaccaucacuccaucuucu (SEQ ID NO: 36) 5' -agaagaugaggaguagauggugg (SEQ ID NO: 37)

45 **par 5**

5' -accaucacuccaucuucuuaa (SEQ ID NO: 38) 5' -uaaagaagaugaggaguagauggu (SEQ ID NO: 39)

par 6

5' -caucaucuuaacuggcauug (SEQ ID NO: 40) 5' -cacaagccaguuagaagaugau (SEQ ID NO: 41)

par 7

50 5' -ggcaauggauugguaccugguca (SEQ ID NO: 42) 5' -ugaccaggauaccacauccauugcc (SEQ ID NO: 43)

par 8

5'-ugguuggccuuauccugccugguau (SEQ ID NO: 44) 5'-auaccaggcaggauaggccaacca (SEQ ID NO: 45)

par 9

5'-uccuugccugugccugccuuacua (SEQ ID NO: 46) 5'-uaguaaggcagccaacaggcgaaga (SEQ ID NO: 47)

5 **par 10**

5'-cgccugugccugccuuacuacauu (SEQ ID NO: 48) 5'-aauaguagaaggcagccaacaggcg (SEQ ID NO: 49)

par 11

5'-gaggcccuagcuuuccacuguu (SEQ ID NO: 50) 5'-aacaguggaagaaagcuagggccuc (SEQ ID NO: 51)

par 12

10 5'-caaaggaaagcgagguggacauuca (SEQ ID NO: 52) 5'-ugaauuccaccucgcuuuccuuug (SEQ ID NO: 53)

par 13

5'-aaagcgagguggacauucaucuguu (SEQ ID NO: 54) 5'-aacagaugaauuccaccucgcuu (SEQ ID NO: 55)

15 Estos pares de oligonucleótidos se incuban con las células ARPE4-19 que contienen CXCR4, se transfectan con los oligonucleótidos de cada par enumerado más arriba, como se ha descrito antes. La inhibición con ARNic de la expresión de CXCR4 en células ARPE-19 inhibe la muerte celular inducida por estrés oxidativo (exposición a t-BH 300 uM) de una manera dependiente de la dosis. Se realiza un análisis de viabilidad celular WST utilizando células no sometidas a tratamiento previo o células expuestas a t-BH durante 6 horas y transfectadas o bien como oligonucleótidos de control o bien como oligonucleótidos de ARNic a 10 nM o 25 nM. Adicionalmente, los pares de ARNic tendían a disminuir o inhibir sustancialmente la expresión de CXCR4 en células tratadas en oposición a las células de control a las que no se habían administrado oligonucleótidos de ARNic. Esto sugiere que los oligonucleótidos de ARNic anti-CXCR4 serán un agente útil en la prevención de la EPR y la neurodegeneración retiniana.

Ejemplo 5

25 Se cultiva la línea de células cáncer de mama humano MDA-MB-435s (que expresa SDF-1) en placas de microtitulación y se transfectan alícuotas con uno de los siguientes pares de oligonucleótidos de ARNic anti-SDF-1.

par a

5'-ccagagccaacgucaagcaucaua (SEQ ID NO: 16) 5'-uugagaugcuugacguuggcucugg (SEQ ID NO: 17)

par b

5'-cagagccaacgucaagcaucauaa (SEQ ID NO: 18) 5'-uuugagaugcuugacguuggcucug (SEQ ID NO: 19)

30 **par c**

5'-acacuccaaacugugccuuacagau (SEQ ID NO: 20) 5'-aucugaagggcacaguuuggagugu (SEQ ID NO: 21)

par d

5'-caagugugcauugacccgaagcuua (SEQ ID NO: 22) 5'-uuagcuucgggucaaugcacacuug (SEQ ID NO: 23)

par e

35 5'-aagugugcauugacccgaagcuuaa (SEQ ID NO: 24) 5'-uuuagcuucgggucaaugcacacuu (SEQ ID NO: 25)

par f

5'-cauugacccgaagcuuaaguggauu (SEQ ID NO: 26) 5'-auccacuuuagcuucgggucaaug (SEQ ID NO: 27)

par g

5'-cgaagcuuaaguggauucaggagua (SEQ ID NO: 28) 5'-uacuccugaauccacuuuagcuucg (SEQ ID NO: 29)

40 **par h**

5'-ucaggaguaccuggagaaagcuuaa (SEQ ID NO: 30) 5'-uaaagcuuuccaggguacuccuga (SEQ ID NO: 31)

par i

5'-caggaguaccuggagaaagcuuuuaa (SEQ ID NO: 32) 5'-uuaaagcuuucuccagguacuccug (SEQ ID NO: 33)

par j

5'-aggaguaccuggagaaagcuuuuaa (SEQ ID NO: 34) 5'-uuuaaagcuuucuccagguacuccu (SEQ ID NO: 35)

- 5 Después de la transfección, las células se preparan para el análisis del ARNm de SDF-1 total por medio de una matriz de ADN. Los resultados demuestran que el ARNm específico de SDF-1 está sustancialmente reducido en los transfectantes con ARNic anti-SDF-1.

Ejemplo 6

- 10 A un paciente que padece degeneración macular asociada con la edad exudativa en el ojo derecho se le administra una inyección subretiniana de un implante biodegradable que contiene 1 pg en total de cantidades equimolares del **par 4** de oligonucleótidos (SEQ ID NO: 36 y SEQ ID NO: 37) en un volumen de 100 µl. El ojo se controla semanalmente durante 16 semanas. La semana 3, el paciente presenta una mejora de dos líneas en la agudeza visual; este incremento se mantiene a lo largo de todo el período de ensayo. Al final del período de la semana 16 no se observa incremento en el grado de degeneración macular.

Ejemplo 7

- 15 Se cultivaron células ARPE-19 como se describe en el Ejemplo 1 anterior. Las células se expusieron a SDF-1 α humano recombinante a 10, 100, y 500 ng/ml durante 1 hora antes de la adición del factor generador de estrés. Después se añadió t-BH, durante 0, 30 minutos, 3 horas y 6 horas. El medio se cambió y las células se incubaron adicionalmente durante un total de 24 horas desde el inicio del tratamiento con t-BH después de lo cual se llevó a cabo un análisis de viabilidad celular WST. Como se muestra en la Figura 4, la adición de SDF-1 α humano recombinante no tuvo efecto sobre la disminución estimulada por t-BH en la viabilidad de las células ARPE-19.

Ejemplo 8 (no forma parte de la invención)

- 25 Se diagnostica degeneración macular asociada con la edad exudativa a un paciente masculino de 72 años de edad. Con visitas de control espaciadas tres meses, el progreso de la enfermedad aumenta, mostrando el ojo izquierdo una pérdida de la agudeza visual estadísticamente significativa entre las visitas, y sin mostrar cambios en el ojo derecho.

- 30 Se administra al paciente una inyección subconjuntival de una solución que contiene 10 mg de 1,1'-[1,4-fenilenbis(metilen)]-bis-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano (AMD3100), véase Bridger et al., US2004/0209921, en cada ojo una vez cada dos semanas durante 6 meses. El paciente se controla bimensualmente y se somete a ensayo su agudeza visual.

- Al final del período de tratamiento de seis meses, se somete a ensayo el paciente, y presenta un aumento en la agudeza visual de dos líneas en el ojo derecho y de una línea en el ojo izquierdo. La angiografía con fluoresceína no revela filtración de sangre detectable en los tejidos retinianos desde los vasos sanguíneos circundantes, y no hay incremento en el grado de degeneración retiniana visiblemente aparente desde el comienzo del estudio.

Ejemplo 9 (no forma parte de la invención)

- 35 Una mujer de 69 años de edad se lamenta de pérdida de visión en el ojo izquierdo. La paciente refiere un comienzo de diabetes de Tipo II a los 40 años, y ha estado en tratamiento con hidrocloreuro de metformina durante 10 años. El examen retiniano del ojo izquierdo con dilatación revela neovascularización exudativa y aparente edema macular coherente con un diagnóstico de retinopatía diabética proliferativa. El examen del ojo derecho muestra pequeñas hemorragias y microaneurismas en los vasos sanguíneos retinianos, coherente con un diagnóstico de retinopatía diabética no proliferativa.

- 40 Se administra a la paciente una inyección intravítrea que comprende 150 µl de una solución de ácido hialurónico en la cual están suspendidas microesferas de PLGA biodegradable (diámetro medio de partícula de alrededor de 40 µm; razón de lactida a glicólido 75:25). Véase la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. de Serie 11/368.845, presentada el 6 de Marzo de 2006. El peso aproximado de las microesferas por dosis fue de 20 mg. Además del polímero PLGA, las microesferas comprenden aproximadamente 5% en peso de un derivado de SDF-1 α que comprende un dímero unido por disulfuro que comprende dos péptidos idénticos, comprendiendo cada péptido los aminoácidos 1-9 de SDF-1 (estas posiciones corresponden a los aminoácidos 22-47 del SEQ ID NO: 4, 5, y 6), con la glicina sustituida por prolina en cada posición 2 (correspondiente a la posición 23 del SEQ ID NO: 4, 5, y 6).

- 50 Este dímero se denomina SDF-1 (1-9[P2G]₂) (véase p. ej., Clark-Lewis Publicación de Patente de los Estados Unidos Núm. US 2005/0164935). La sustitución de prolina por glicina en SDF-1 α ó β parece suficiente para convertir un agonista de CXCR4 en un antagonista de CXCR4.

Las micropartículas se formulan para liberar alrededor de 40% de SDF-1(1-9[P2G]₂) en los primeros días, con una liberación posterior de alrededor de 1% a alrededor de 2% a lo largo de la vida restante de las microesferas.

5 La agudeza visual de la paciente (y el estado retiniano bajo dilatación) se controlan cada dos semanas durante 8 semanas. Al finalizar este período de tiempo, se observa que el edema macular de la paciente ha disminuido en gran parte, a la vez que no se observa nueva neovascularización en el ojo izquierdo. La angiografía con fluoresceína revela que la hemorragia se ha detenido, y la agudeza visual ha amentado en tres líneas en el ojo izquierdo y en 1 línea en el ojo derecho.

Ejemplo 10 (no forma parte de la invención)

10 La paciente del Ejemplo 9 se trata mediante inyección subconjuntival en cada ojo (volumen 100 µl en solución de ácido hialurónico) de un único implante intraocular de PLGA monolítico fibroso (aproximadamente 120 µg; diámetro de aproximadamente 3 mm) que comprende 50% en peso de compuesto inhibidor de CXCR4: N-[(S)-1-(1-naftil)etil]-5-(2-metilbenzil)amino-2-(S)-[4-[N-(imidazol-2-ilmetil)aminometil]benzoil]aminopentanoilamida (véase Yamzaki et al., Publicación de los Estados Unidos Núm. 2004/0254221).

15 Después de 6 semanas la paciente es controlada, y el edema macular es apenas observable. La angiografía con fluoresceína no revela filtración alguna de sangre en la retina. Después de 8 semanas se somete a ensayo la agudeza visual, y ha mejorado en 2 líneas en cada ojo.

Ejemplo 11 (no forma parte de la invención)

20 Se administra a la paciente del Ejemplo 9 una inyección intravítrea en cada ojo que comprende 150 µl de una solución de ácido hialurónico en la que se suspenden microesferas de PLGA biodegradables (diámetro medio de partícula de alrededor de 40 µm; razón de lactida a glicólido 75:25). El peso aproximado de las microesferas por dosis fue de 20 mg. Además del polímero de PLGA, las microesferas comprenden aproximadamente 5% en peso de un anticuerpo monoclonal inhibidor de CXCR4 (denominado 12G5; véase Hoxie, Patente de los Estados Unidos Núm. 5.994.515.) Aproximadamente 40% de este anticuerpo es liberado en los primeros 3 días después de la inyección, y alrededor de 1% por día después de eso.

25 Después de 6 semanas se repite el tratamiento. Al final de las 18 semanas se somete a ensayo a la paciente. La angiografía con fluoresceína no muestra filtración de sangre en la retina, y el grado de neovascularización ha disminuido. La agudeza visual ha aumentado 3 líneas en el ojo izquierdo y 2 líneas en el ojo derecho.

30 Se entenderá que se pueden realizar una variedad de modificaciones o derivados de los oligonucleótidos descritos en la presente memoria, tal como la estabilización frente a la actividad nucleasa utilizando, por ejemplo, modificaciones con fosforotioato, metilfosfonato, azúcar 2'O-metilado, ácidos peptidonucleicos y similares. Todas estas variaciones entran dentro del ámbito de la presente invención.

Los ejemplos anteriores sirven solamente para mejorar la descripción de otras partes de la memoria, incluyendo las reivindicaciones. Como tales estos ejemplos ilustran ciertas realizaciones de la invención, pero no la limitan.

35 Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente mencionadas en esta memoria son indicativas del nivel de experiencia de los expertos en la técnica a la cual pertenece esta invención.

Se entenderá que se pueden realizar una variedad de modificaciones o derivados de los oligonucleótidos descritos en la presente memoria, tal como la estabilización frente a la actividad nucleasa utilizando, por ejemplo, modificaciones con fosforotioato, metilfosfonato, azúcar 2'O-metilado, y similares. Todas estas variaciones entran dentro del ámbito de la presente invención.

40 Los ejemplos precedentes sirven solamente para ilustrar ciertas realizaciones de la invención, que no está limitada de ese modo, sino que está definida solamente por la reivindicación que completa esta memoria.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Rodregues, Gerard A. Donello, John E. McLaughlin, Anne P. Schweighoffer, Fabien P.

<120> Uso de Antagonistas de Receptores de Quimioquinas

<130> D-3225 P2

5 <160> 55

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 352

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 1

```

Met Glu Gly Ile Ser Ile Tyr Thr Ser Asp Asn Tyr Thr Glu Glu Met
 1          5          10          15

Gly Ser Gly Asp Tyr Asp Ser Met Lys Glu Pro Cys Phe Arg Glu Glu
          20          25          30

Asn Ala Asn Phe Asn Lys Ile Phe Leu Pro Thr Ile Tyr Ser Ile Ile
          35          40          45

Phe Leu Thr Gly Ile Val Gly Asn Gly Leu Val Ile Leu Val Met Gly
          50          55          60

Tyr Gln Lys Lys Leu Arg Ser Met Thr Asp Lys Tyr Arg Leu His Leu
 65          70          75          80

Ser Val Ala Asp Leu Leu Phe Val Ile Thr Leu Pro Phe Trp Ala Val
          85          90          95

Asp Ala Val Ala Asn Trp Tyr Phe Gly Asn Phe Leu Cys Lys Ala Val
          100          105          110

His Val Ile Tyr Thr Val Asn Leu Tyr Ser Ser Val Leu Ile Leu Ala
          115          120          125

Phe Ile Ser Leu Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Thr Asn Ser
          130          135          140

Gln Arg Pro Arg Lys Leu Leu Ala Glu Lys Val Val Tyr Val Gly Val
          145          150          155          160

Trp Ile Pro Ala Leu Leu Leu Thr Ile Pro Asp Phe Ile Phe Ala Asn
          165          170          175
    
```

ES 2 385 924 T3

Val Ser Glu Ala Asp Asp Arg Tyr Ile Cys Asp Arg Phe Tyr Pro Asn
 180 185 190
 Asp Leu Trp Val val val Phe Gln Phe Gln His Ile Met Val Gly Leu
 195 200 205
 Ile Leu Pro Gly Ile Val Ile Leu Ser Cys Tyr Cys Ile Ile Ile Ser
 210 215 220
 Lys Leu Ser His Ser Lys Gly His Gln Lys Arg Lys Ala Leu Lys Thr
 225 230 235
 Thr Val Ile Leu Ile Leu Ala Phe Phe Ala Cys Trp Leu Pro Tyr Tyr
 245 250 255
 Ile Gly Ile Ser Ile Asp Ser Phe Ile Leu Leu Glu Ile Ile Lys Gln
 260 265 270
 Gly Cys Glu Phe Glu Asn Thr Val His Lys Trp Ile Ser Ile Thr Glu
 275 280 285
 Ala Leu Ala Phe Phe His Cys Cys Leu Asn Pro Ile Leu Tyr Ala Phe
 290 295 300
 Leu Gly Ala Lys Phe Lys Thr Ser Ala Gln His Ala Leu Thr Ser Val
 305 310 315 320
 Ser Arg Gly Ser Ser Leu Lys Ile Leu Ser Lys Gly Lys Arg Gly Gly
 325 330 335
 His Ser Ser Val Ser Thr Glu Ser Glu Ser Ser Ser Phe His Ser Ser
 340 345 350

- <210> 2
- <211> 1912
- <212> ADN
- 5 <213> Homo sapiens

<400> 2
 ttttttttct tccctctagt gggcggggca gaggagttag ccaagatgtg actttgaaac 60
 cctcagcgtc tcagtgccct tttgttctaa acaaagaatt ttgtaattgg ttctaccaa 120
 gaaggatata atgaagtcac tatgggaaaa gatggggagg agagttgtag gattctacat 180
 taattctctt gtgcccttag cccactactt cagaatttcc tgaagaaagc aagcctgaat 240
 tggtttttta aattgcttta aaaatttttt ttaactgggt taatgcttgc tgaattggaa 300
 gtgaatgtcc attcctttgc ctcttttgca gatatacact tcagataact acaccgagga 360
 aatgggctca ggggactatg actccatgaa ggaaccctgt ttccgtgaag aaaatgctaa 420
 tttcaataaa atcttctg cccaccatcta ctccatcatc ttcttaactg gcattgtggg 480
 caatggattg gtcatcctgg tcatgggtta ccagaagaaa ctgagaagca tgacggacaa 540

ES 2 385 924 T3

gtacaggctg cacctgtcag tggccgacct cctctttgtc atcacgcttc ctttctgggc 600
 agttgatgcc gtggcaaact ggtacttttg gaacttccta tgcaaggcag tccatgtcat 660
 ctacacagtc aacctctaca gcagtgtcct catcctggcc ttcacagtc tggaccgcta 720
 cctggccatc gtccacgcca ccaacagtca gaggccaagg aagctgttgg ctgaaaaggt 780
 ggtctatggt ggcgtctgga tccctgccct cctgctgact attcccgact tcatctttgc 840
 caacgtcagt gaggcagatg acagatatat ctgtgaccgc ttctacccca atgacttgtg 900
 ggtggttgtg ttccagtttc agcacatcat ggttggcctt atcctgcctg gtattgtcat 960
 cctgtctcgc tattgcatta tcatctccaa gctgtcacac tccaagggcc accagaagcg 1020
 caaggccctc aagaccacag tcatcctcat cctggctttc ttcgcctggt ggctgcctta 1080
 ctacattggg atcagcatcg actccttcat cctcctggaa atcatcaagc aagggtgtga 1140
 gtttgagaac actgtgcaca agtggatttc catcaccgag gccctagctt tcttccactg 1200
 ttgtctgaac cccatcctct atgctttcct tggagccaaa tttaaaacct ctgccagca 1260
 cgcactcacc tctgtgagca gagggtccag cctcaagatc ctctccaaag gaaagcgagg 1320
 tggacattca tctgtttcca ctgagtctga gtcttcaagt tttcactcca gctaacacag 1380
 atgtaaaaga ctttttttta tacgataaat aactttttt taagttacac atttttcaga 1440
 tataaaagac tgaccaatat tgtacagttt ttattgcttg ttggattttt gtcttgtggt 1500
 tctttagttt ttgtgaagt taattgactt atttatataa attttttttg tttcatattg 1560
 atgtgtgtct aggcaggacc tgtggccaag ttcttagttg ctgtatgtct cgtggttaga 1620
 ctgtagaaaa gggaaactgaa cattccagag cgtgtagtga atcacgtaaa gctagaaatg 1680
 atccccagct gtttatgcat agataatctc tccattcccg tggaacgttt ttcctgttct 1740
 taagacgtga ttttctgtga gaagatggca cttataacca aagcccaaag tggatagaa 1800
 atgctggttt ttcagtttcc aggagtggtg tgatttcagc acctacagtg tacagtcttg 1860
 tattaagttg ttaataaaaag tacatgttaa acttaaaaaa aaaaaaaaaa aa 1912

<210> 3
 <211> 1691
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 3

aacttcagtt tgttggctgc ggcagcaggt agcaaagtga cgccgagggc ctgagtgctc 60
 cagtagccac cgcactctgga gaaccagcgg ttaccatgga ggggatcagt atatacactt 120
 cagataacta caccgaggaa atgggctcag gggactatga ctccatgaag gaaccctggt 180
 tccgtgaaga aaatgctaata ttcaataaaa tcttctgccc caccatctac tccatcatct 240
 tcttaactgg cattgtgggc aatggattgg tcatcctggt catgggttac cagaagaaac 300
 tgagaagcat gacggacaag tacaggctgc acctgtcagt gcccgacctc ctctttgtca 360
 tcacgcttcc cttctgggca gttgatgccg tggcaaactg gtactttggg aacttcctat 420

ES 2 385 924 T3

gcaaggcagt ccatgtcatc tacacagtca acctctacag cagtgtcctc atcctggcct 480
 tcatcagtct ggaccgctac ctggccatcg tccacgccac caacagtcag aggccaagga 540
 agctgttggc tgaaaagggtg gtctatgttg gcgtctggat ccctgccctc ctgctgacta 600
 ttcccgaact catctttgcc aacgtcagtg aggcagatga cagatatatc tgtgaccgct 660
 tctaccccaa tgacttgttg gtggttgtgt tccagtttca gcacatcatg gttggcctta 720
 tcctgcctgg tattgtcatc ctgtcctgct attgcattat catctccaag ctgtcacact 780
 ccaagggcca ccagaagcgc aaggccctca agaccacagt catcctcatc ctggctttct 840
 tcgcctgttg gctgccttac tacattggga tcagcatcga ctccttcac ctcctggaaa 900
 tcatcaagca aggggtgtgag tttgagaaca ctgtgcacaa gtggatttcc atcaccgagg 960
 ccctagcttt cttccactgt tgtctgaacc ccacctccta tgctttcctt ggagccaaat 1020
 ttaaaaccte tgcccagcac gcactcacct ctgtgagcag agggccagc ctcaagatcc 1080
 tctccaaagg aaagcgaggt ggacattcat ctgtttccac tgagtctgag tcttcaagtt 1140
 ttactccag ctaacacaga tgtaaaagac tttttttat acgataaata acttttttt 1200
 aagttacaca ttttccagat ataaaagact gaccaatatt gtacagtttt tattgcttgt 1260
 tggatttttg tcttgtgttt ctttagtttt tgtgaagttt aattgactta tttatataaa 1320
 tttttttgt ttcatttga tgtgtgtcta ggcaggacct gtggccaagt tcttagttgc 1380
 tgtatgtctc gtgtaggac ttagaaaaag ggaactgaac attccagagc gtgtagtgaa 1440
 tcacgtaaag ctagaaatga tccccagctg tttatgcata gataatctct ccattcccgt 1500
 ggaacgtttt tcctgttctt aagacgtgat tttgctgtag aagatggcac ttataaccaa 1560
 agcccaaagt ggtatagaaa tgcctgtttt tcagttttca ggagtgggtt gatttcagca 1620
 cctacagtgt acagtcttgt attaagttgt taataaaagt acatgttaaa cttaaaaaaa 1680
 aaaaaaaaa a 1691

<210> 4
 <211> 89
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens

<400> 4

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

10 <210> 5
 <211> 93
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 5

ES 2 385 924 T3

Met Asn Ala Lys Val Val Val Val Leu Val Leu Val Leu Thr Ala Leu
1 5 10 15

Cys Leu Ser Asp Gly Lys Pro Val Ser Leu Ser Tyr Arg Cys Pro Cys
20 25 30

Arg Phe Phe Glu Ser His Val Ala Arg Ala Asn Val Lys His Leu Lys
35 40 45

Ile Leu Asn Thr Pro Asn Cys Ala Leu Gln Ile Val Ala Arg Leu Lys
50 55 60

Asn Asn Asn Arg Gln Val Cys Ile Asp Pro Lys Leu Lys Trp Ile Gln
65 70 75 80

Glu Tyr Leu Glu Lys Ala Leu Asn Lys Arg Phe Lys Met
85 90

<210> 6

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 6

Met Asn Ala Lys Val Val Val Val Leu Val Leu Val Leu Thr Ala Leu
1 5 10 15

Cys Leu Ser Asp Gly Lys Pro Val Ser Leu Ser Tyr Arg Cys Pro Cys
20 25 30

Arg Phe Phe Glu Ser His Val Ala Arg Ala Asn Val Lys His Leu Lys
35 40 45

Ile Leu Asn Thr Pro Asn Cys Ala Leu Gln Ile Val Ala Arg Leu Lys
50 55 60

Asn Asn Asn Arg Gln Val Cys Ile Asp Pro Lys Leu Lys Trp Ile Gln
65 70 75 80

Glu Tyr Leu Glu Lys Ala Leu Asn Lys Gly Arg Arg Glu Glu Lys Val
85 90 95

Gly Lys Lys Glu Lys Ile Gly Lys Lys Lys Arg Gln Lys Lys Arg Lys
100 105 110

Ala Ala Gln Lys Arg Lys Asn
115

<210> 7

<212> 1937

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 7

ES 2 385 924 T3

gcactttcac tctccgtcag ccgattgcc cgctcggcgt ccggcccccg acccgcgctc 60
gtccgcccgc ccgcccgcc gccccgcca tgaacgccaa ggtcgtggtc gtgctggtec 120
tcgtgctgac cgcgctctgc ctcagcgacg ggaagcccgt cagcctgagc tacagatgcc 180
catgccgatt cttcgaaagc catgttgcca gagccaacgt caagcatctc aaaattctca 240
aactccaaa ctgtgccctt cagattgtag cccggctgaa gaacaacaac agacaagtgt 300
gcattgacce gaagctaaag tggattcagg agtacctgga gaaagcttta aacaagtaag 360
cacaacagcc aaaaaggact ttccgctaga cccactcgag gaaaactaaa accttgtgag 420
agatgaaagg gcaagacgt gggggagggg gccttaacca tgaggaccag gtgtgtgtgt 480
ggggtgggca cattgatctg ggatcgggcc tgaggtttgc cagcatttag accctgcatt 540
tatagcatac ggtatgatat tgcagcttat attcatccat gccctgtacc tgtgcacgtt 600
ggaactttta tfactggggt ttttctaaga aagaaattgt attatcaaca gcattttcaa 660
gcagttagtt cttcatgat catcacaatc atcatcattc tcattctcat tttttaatc 720
aacgagtact tcaagatctg aatttggctt gtttggagca tctcctctgc tcccctgggg 780
agtctgggca cagtcagggt gtggcttaac agggagctgg aaaaagtgtc cttctctcag 840
aactgaggc tcccgcagca gcgcccctcc caagaggaag gcctctgtgg cactcagata 900
ccgactgggg ctgggcgccc cactgcctt cacctcctct ttcaacctca gtgattggct 960
ctgtgggctc catgtagaag cactattac tgggactgtg ctcagagacc cctctcccag 1020
ctattcttac tctctccccg actccgagag catgcttaat cttgcttctg cttctcattt 1080
ctgtagcctg atcagcgcg caccagccgg gaagaggggtg attgctgggg ctcgtgccct 1140
gcacccctct cctcccaggg cctgccccac agctcgggcc cctctgtgaga tccgtctttg 1200
gcctctcca gaatggagct ggcctctcc tggggatgtg taatggctcc cctgcttacc 1260
cgaaaagac aagtctttac agaatcaaat gcaattttaa atctgagagc tcgctttgag 1320
tgactggggt ttgtgattgc ctctgaagcc tatgtatgcc atggaggcac taacaaactc 1380
tgaggtttcc gaaatcagaa gcgaaaaaat cagtgaataa accatcatct tgccactacc 1440
ccctcctgaa gccacagcag ggtttcaggt tccaatcaga actgttggca aggtgacatt 1500
tccatgcata aatgcgatcc acagaaggtc ctggtggtat ttgtaacttt ttgcaaggca 1560
tttttttata tataattttg tgcacatttt tttttacggt tctttagaaa acaaatgtat 1620
ttcaaaatat atttatagtc gaacaattca tataattgaa gtggagccat atgaatgtca 1680
gtagtttata cttctctatt atctcaaact actggcaatt tgtaaagaaa tatatatgat 1740
atataaatgt gattgcagct tttcaatggt agccacagtg tattttttca cttgtactaa 1800
aattgtatca aatgtgacat tatatgact agcaataaaa tgctaattgt ttcattggtat 1860
aaacgtccta ctgtatgtgg gaatttattt acctgaata aaattcatta gttgttagtg 1920
atggagctta aaaaaaa 1937

<210> 8
<211> 3542
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens
<400> 8

ES 2 385 924 T3

gcactttcac tctccgtcag ccgcattgcc cgctcggcgt cgggccccg acccgcgctc	60
gtccgcccgc ccgcccgcc gcccgcgcca tgaacgcaa ggtcgtggtc gtgctgggcc	120
tcgtgctgac cgcgctctgc ctcagcgacg ggaagcccgt cagcctgagc tacagatgcc	180
catgccgatt cttcгаааgc catgttgcca gagccaacgt caagcatctc aaaattctca	240
acactccaaa ctgtgccctt cagattgtag cccggctgaa gaacaacaac agacaagtgt	300
gcattgacct gaagctaaag tggattcagg agtacctgga gaaagcttta aacaagaggt	360
tcaagatgtg agagggtcag acgcctgagg aacccttaca gtaggagccc agctctgaaa	420
ccagtgttag ggaagggcct gccacagcct cccctgccag ggcagggccc caggcattgc	480
caagggcttt gttttgcaca ctttgccata ttttcacat ttgattatgt agcaaaatac	540
atgacattta tttttcattt agtttgatta ttcagtgca ctggcgacac gtagcagctt	600
agactaaggc cattattgta cttgccttat tagagtgtct ttccacggag ccaactcctc	660
gactcagggc tcctgggttt tgtattctct gagctgtgca ggtggggaga ctgggctgag	720
ggagcctggc cccatggcca gccctagggt ggagagccac caagagggac gcctgggggt	780
gccaggacca gtcaacctgg gcaaagccta gtgaaggctt ctctctgtgg gatgggatgg	840
tggagggcca catgggaggc tcaccccctt ctccatccac atgggagccg ggtctgcctc	900
ttctgggagg gcagcagggc taccctgagc tgaggcagca gtgtgaggcc agggcagagt	960
gagaccagc cctcatcccg agcacctcca catcctccac gttctgctca tcattctctg	1020
tctcatccat catcatgtgt gtccacgact gtctccatgg ccccgcaaaa ggactctcag	1080
gaccaaagct ttcattgaaa ctgtgcacca agcaggaaat gaaaatgtct tgtgttacct	1140
gaaaacactg tgcacatctg tgtcttgttt ggaatattgt ccattgtcca atcctatgtt	1200
tttgttcaaa gccagcgtcc tcctctgtga ccaatgtctt gatgcatgca ctgttcccc	1260

ES 2 385 924 T3

tgtgcagccg ctgagcagagg agatgctcct tgggcccttt gagtgcagtc ctgatcagag 1320
 ccgtggctct ttggggtgaa ctaccttggg tccccactg atcacaaaaa catggtgggt 1380
 ccatgggcag agcccaaggg aattcgggtg gcaccagggt tgaccccaga ggattgctgc 1440
 cccatcagtg ctccctcaca tgtcagtagc ttcaactag ggccaagccc agcactgctt 1500
 gaggaaaaca agcattcaca acttgTTTTT ggTTTTTaaa acccagcca caaaataacc 1560
 aatcctggac atgaagattc tttcccaatt cacatctaac ctcatcttct tcaccatttg 1620
 gcaatgccat catctcctgc ctctcctctg ggccctctct gctctgcgtg tcacctgtgc 1680
 ttcgggacct tcccacagga catttctcta agagaacaat gtgctatgtg aagagtaagt 1740
 caacctgcct gacatttggg gtgttccccct tccactgagg gcagtcgata gagctgtatt 1800
 aagccactta aaatgttcac ttttgacaaa ggcaagcact tgtgggTTTT tgTTTTgTTT 1860
 ttcattcagt ctacgaata cttttgccct ttgattaaag actccagtta aaaaaattt 1920
 taatgaagaa agtggaaaac aaggaagtca aagcaaggaa actatgtaac atgtaggaag 1980
 taggaagtaa attatagtga tgtaatcttg aattgtaact gttcttgaat ttaataatct 2040
 gtaggtaat tagtaacatg tgtaagtat tttcataagt atttcaaatt ggagcttcat 2100
 ggcagaaggc aaacccatca acaaaaattg tcccttaaac aaaaattaaa atcctcaatc 2160
 cagctatggt atattgaaaa aatagagcct gagggatctt tactagtat aaagatacag 2220
 aactcttca aaacctttg aaattaacct ctactatac cagtataatt gagttttcag 2280
 tggggcagtc attatccagg taatccaaga tttttaaaa tctgtcacgt agaacttggg 2340
 tgtacctgcc cccaatccat gaaccaagac cattgaattc ttggttgagg aaacaaacat 2400
 gaccctaaat ctgactaca gtcaggaaaag gaatcatttc tatttctcct ccatgggaga 2460
 aaatagataa gagtagaac tgcagggaaa attatttga taacaattcc tctactaaca 2520
 atcagctcct tcttgagac tgcagcagta aagcaatag catttaata cagtcttcca 2580
 tttgcaaggg aaaagtctct tgtaatccga atctcttttt gctttcgaac tgctagtcaa 2640
 gtgcgtccac gagctgttta ctagggatcc ctcatctgtc cctccgggac ctggtgctgc 2700
 ctctacctga cactcccttg ggctccctgt aacctttca gaggccctcg ctgccagctc 2760
 tgatcagga cccagaggaa ggggccagag gctcgttgac tggctgtgtg ttgggattga 2820
 gtctgtgcca cgtgtttgtg ctgtggtgtg tccccctctg tccaggcact gagataccag 2880
 cgaggaggct ccagagggca ctctgcttgt tattagagat tacctcctga gaaaaaagg 2940
 tccgcttggg gcagaggggc tgaatagcag aaggttgcac ctcccccaac cttagatggt 3000
 ctaagtcttt ccattggatc tcattggacc ctccatggt gtgatcgtct gactggtggt 3060
 atcaccgtgg gctccctgac tgggagttga tcgctttcc cagggtctac acccttttcc 3120
 agctggatga gaatttgagt gctctgatcc ctctacagag ctccctgac tcattctgaa 3180
 ggagcccat tcttgggaaa tattccctag aaacttcaa atcccctaag cagaccactg 3240
 ataaaaccat gtagaaaatt tgttattttg caacctcgt ggactctcag tctctgagca 3300
 gtgaatgatt cagtgttaaa tgtgatgaat actgtatttt gtattgtttc aattgcatct 3360
 cccagataat gtgaaaatgg tccaggagaa ggccaattcc tatacgcagc gtgctttaa 3420
 aaataaataa gaaacaactc tttgagaaac acaatttct actttgaagt cataccaatg 3480
 aaaaaatgta tatgcactta taattttcct aataaagttc tgtactcaa tntagctacc 3540
 aa

<210> 9
 <211> 471
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

ES 2 385 924 T3

<400> 9
gcactttcac tctccgtcag ccgcattgcc cgctcggcgt ccggcccccg acccgcgctc 60
gtccgcccgc ccgcccgcc gccccgcca tgaacgcca ggtcgtggtc gtgctggctc 120
tcgtgctgac cgcgctctgc ctcagcgacg ggaagcccg cagcctgagc tacagatgcc 180
catgccgatt cttcgaaagc catggtgcca gagccaacgt caagcatctc aaaattctca 240
acactcctaaa ctgtgccctt cagattgtag cccggctgaa gaacaacaac agacaagtgt 300
gcattgacct gaagctaaag tggattcagg agtacctgga gaaagcttta aacaaggggc 360
gcagagaaga aaaagtggg aaaaaagaaa agataggaaa aaagaagcga cagaagaaga 420
gaaaggtgct ccagaaaagg aaaaactagt tatctgccac ctcgagatgg a 471

<210> 10
<211> 25
5 <212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> anti-CXCR4 ARNic

<400> 10
10 aacaguggaa gaaagcuagg ggcuc 25

<210> 11
<211> 25
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> ARNic anti-CXCR4

<400>
11
gaggcccuag cuuucuucca cuguu 25

20 <210> 12
<211> 25
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
25 <223> ARNic anti-CXCR4

<400> 12
aacaguggaa gaaagcuagg gccuc 25

<210> 13
<211> 25
30 <212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> ARNi-s anti-CXCR4

<400> 13
35 gaggcccuag cuuucuucca cuguu 25

<210> 14
<211> 25
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> ARNic anti-CXCR4

	<400> 14 cuuggagugu gacagcuugg agaag	25
5	<210> 15 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNi-s anti-CXCR4	
10	<400> 15 caucuccaag cugucacacu ccaag	25
15	<210> 16 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNic anti-SDF-1	
20	<400> 16 ccagagccaa cgucaagcau cucaa	25
25	<210> 17 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNic anti-SDF-1	
30	<400> 17 uugagaugcu ugacguuggc ucugg	25
35	<210> 18 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNic anti-SDF-1	
40	<400> 18 cagagccaac gucaagcauc ucaaa	25
45	<210> 19 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNic anti-SDF-1	
50	<400> 19 uuugagaugc uugacguugg cucug	25
	<210> 20 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNic anti-SDF-1	
	<400> 20 acacuccaaa cugugccuu cagau	25

<210> 21
 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

<400> 21
 aucugaaggg cacaguuugg agugu 25

10 <210> 22
 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

15 <400> 22
 caagugugca uugacccgaa gcuaa 25

<210> 23
 <211> 25
 <212> ARN

20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

<400> 23
 uuagcuucgg gucaaugcac acuug 25

25 <210> 24
 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

30 <400> 24
 aagugugcau ugacccgaag cuaaa 25

<210> 25
 <211> 25
 <212> ARN

35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> ARNic anti-SDF-1.

<400> 25
 uuuagcuucg ggucaaugca cacuu 25

<210> 26
 <211> 25
 <212> ARN

<213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

<400> 26
 cauugaccpg aagcuaaagu ggauu 25

50 <210> 27
 <211> 25

<212> ARN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

 5 <400> 27
 aauccacuuu agcuucgggu caaug 25

 <210> 28
 <211> 25
 <212> ARN
 10 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

 <400> 28
 cgaagcuaaa guggauucag gagua 25

 15 <210> 29
 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> ARNic anti-SDF-1

 <400> 29
 uacuccugaa uccacuuuag cuucg 25

 <210> 30
 <211> 25
 25 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

 <400> 30
 30 ucaggaguac cuggagaaag cuuaa 25

 <210> 31
 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

 35 <220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

 <400> 31
 uaaagcuuuc uccagguacu ccuga 25

 <210> 32
 40 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

 45 <400> 32
 caggaguacc uggagaaagc uuuaa 25

 <210> 33
 <211> 25
 <212> ARN
 50 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

 <400> 33
 uuaaagcuuu cuccagguac uccug 25

 5 <210> 34<
 211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 10 <223> ARNic anti-SDF-1

 <400> 34
 aggaguaccu ggagaaagcu uuaaa 25

 <210> 35
 <211> 25
 15 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> ARNic anti-SDF-1

 20 <400> 35
 uuuuaagcuu ucuccaggua cuccu 25

 <210> 36
 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> ARNic anti-CXCR4

 <400> 36
 cccaccaucu acuccaucu cuucu 25

 <210> 37
 30 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> ARNic anti-CXCR4

 35 <400> 37
 agaagaugau ggaguagaug guggg 25

 <210> 38
 <211> 25
 <212> ARN<213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> ARNic anti-CXCR4.

 <400> 38
 accaucuacu ccaucaucuu cuuaa 25

 <210> 39
 45 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> ARNic anti-CXCR4

	<400> 39 uuaagaagau gauggaguag auggu	25
5	<210> 40 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNic anti-CXCR4	
10	<400> 40 caucaucuuc uuaacuggca uugug	25
15	<210> 41 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNic anti-CXCR4	
20	<400> 41 cacaaugcca guuaagaaga ugaug	25
25	<210> 42 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNi-s anti-CXCR4	
30	<400> 42 ggcaauggau uggucauccu gguca	25
35	<210> 43 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNic anti-CXCR4	
40	<400> 43 ugaccaggau gaccaaucca uugcc	25
45	<210> 44 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNic anti-CXCR4	
50	<400> 44 ugguuggccu uauccugccu gguau	25
	<210> 45 <211> 25 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNi-s anti-CXCR4	
	<400> 45 auaccaggca ggauaaggcc aacca	25

<210> 46
 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> ARNic anti-CXCR4

<400> 46
 ucuucgccug uggcugccu uacua 25

10 <210> 47
 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> ARNi-s anti-CXCR4

15 <400> 47
 uaguaaggca gccaacaggc gaaga 25

<210> 48
 <211> 25
 <212> ARN

20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> ARNic anti-CXCR4

<400> 48
 cgccguugg cugccuacu acauu 25

25 <210> 49
 <211> 25
 <212> ARN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> ARNic anti-CXCR4

30 <400> 49
 aauguaguaa ggcagccaac aggcg 25

<210> 50
 <211> 25
 <212> ARN

35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> ARNic anti-CXCR4

<400> 50
 gaggccuag cuuucuucca cuguu 25

<210> 51
 <211> 25
 <212> ARN

45 <213> Secuencia artificial

<220><223> ARNic anti-CXCR4

<400> 51
 aacaguggaa gaaagcuagg gccuc 25

<210> 52
 <211> 25
 <212> ARN

50 <213> Secuencia artificial

ES 2 385 924 T3

	<220>		
	<223> ARNic anti-CXCR4		
	<400> 52		
	caaaggaag cgaggugac auuca	25	
5	<210> 53		
	<211> 25		
	<212> ARN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
10	<223> ARNic anti-CXCR4		
	<400> 53		
	ugaaugucca ccucgcuuc cuuug	25	
	<210> 54		
	<211> 25		
15	<212> ARN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> ARNic anti-CXCR4		
	<400> 54		
20	aaagcgaggu ggacauucau cuguu	25	
	<210> 55		
	<211> 25		
	<212> ARN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> ARNic anti-CXCR4		
	<400> 55		
	aacagaugaa uguccaccuc gcuuu	25	

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende un inhibidor de la actividad de CXCR4 para su uso en un método de tratamiento de una afección oftálmica en un mamífero, en donde dicho inhibidor comprende al menos una de las siguientes secuencias de ribonucleótidos:

- 5 SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, 10 SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, y SEQ ID NO: 55,

en donde dicha afección oftálmica se selecciona entre neurorretinopatía macular; enfermedad de Behcet; neovascularización coroidal; uveítis diabética; degeneración macular tal como degeneración macular aguda, degeneración macular asociada con la edad no exudativa y degeneración macular asociada con la edad exudativa; edema, tal como edema macular, edema macular cistoide y edema macular diabético; coroiditis multifocal; trastornos retinianos, tal como oclusión venosa central retiniana, retinopatía diabética (incluyendo la retinopatía diabética proliferativa), enfermedad retiniana uveítica; oftalmia simpática; síndrome de Vogt Koyanagi-Harada (VKH) y efusión uveal.

15

FIGURA 1

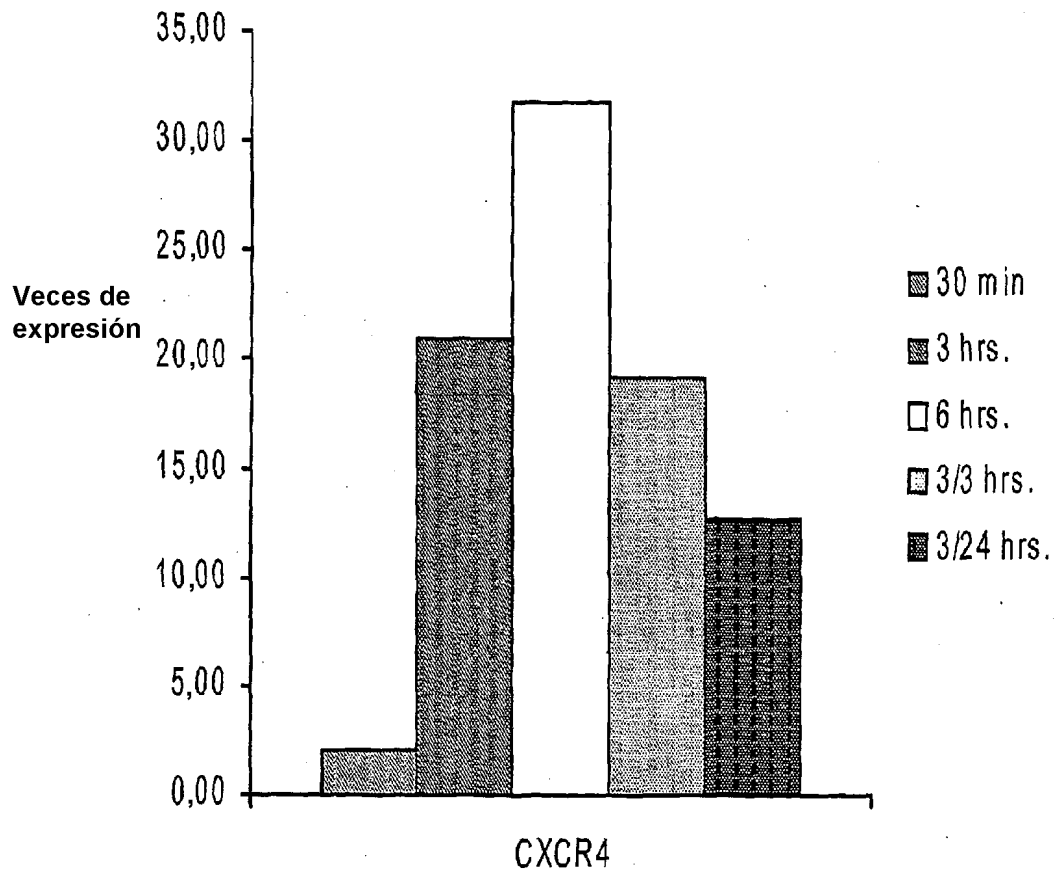


FIGURA 2

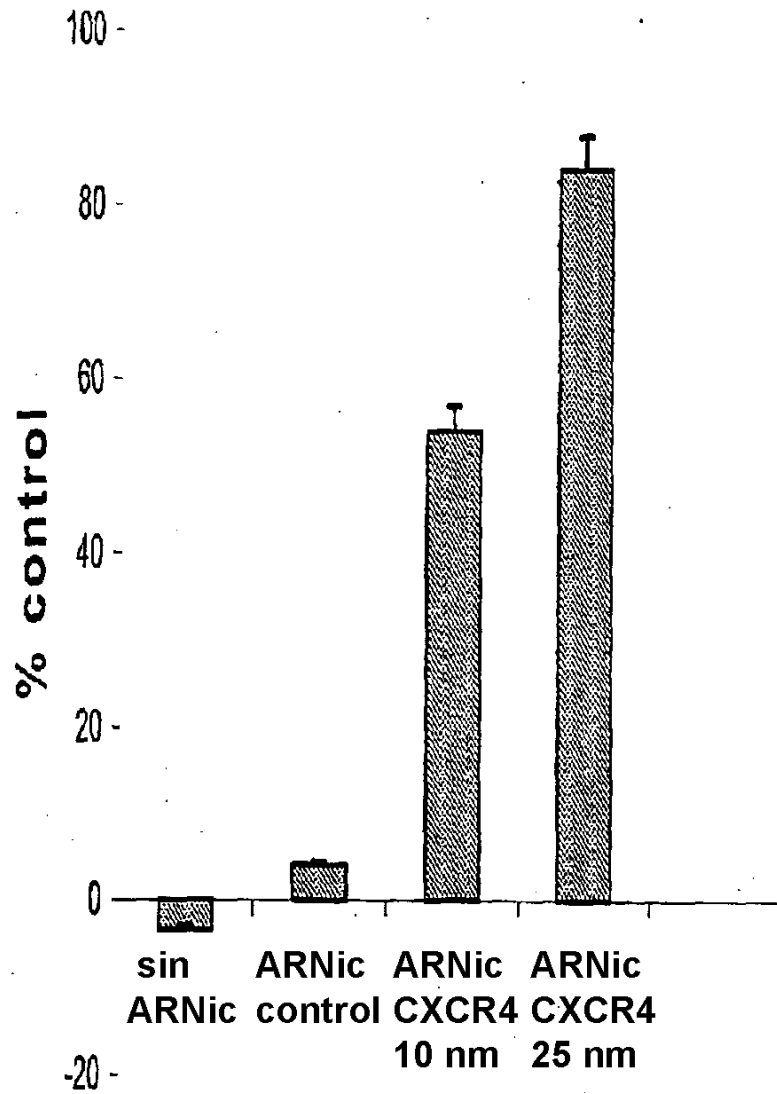


FIGURA 3

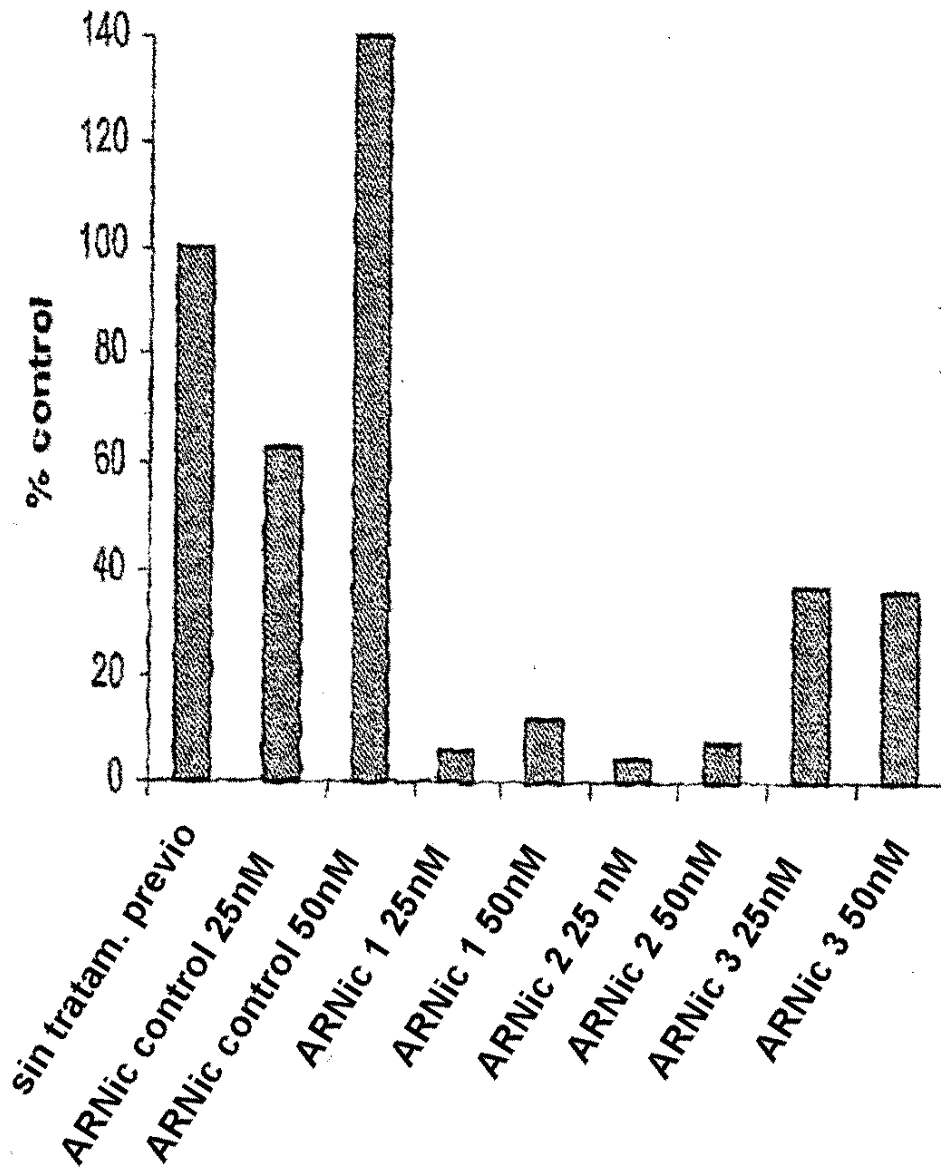


FIGURA 4

