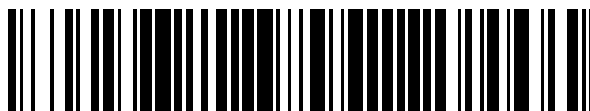


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 386 847**

51 Int. Cl.:  
**A61K 9/00** (2006.01) **C12N 15/113** (2010.01)  
**A61K 31/713** (2006.01) **A61K 48/00** (2006.01)  
**A61K 38/39** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 47/36** (2006.01)  
**A61P 27/02** (2006.01)  
**A61K 9/08** (2006.01)  
**A61K 35/12** (2006.01)  
**A61K 47/34** (2006.01)  
**C07K 16/22** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08747032 .4**  
96 Fecha de presentación: **28.04.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2146727**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.01.2010**

54 Título: **Composiciones macromoleculares con una viscosidad alta para tratar afecciones oculares**

30 Prioridad:  
**30.04.2007 US 742350**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**03.09.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**03.09.2012**

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

72 Inventor/es:  
**HUGHES, Patrick, M.;**  
**DEVRIES, Gerald, W.;**  
**LYONS, Robert, T.;**  
**TROGDEN, John, T. y**  
**WHITCUP, Scott, M.**

74 Agente/Representante:  
**Carpintero López, Mario**

ES 2 386 847 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

Composiciones macromoleculares con una viscosidad alta para tratar afecciones oculares

### ANTECEDENTES

5 La presente invención se refiere a composiciones oftálmicamente útiles que comprenden un componente inductor de la viscosidad y un agente farmacéutico activo. El agente farmacéuticamente activo comprende un componente anti-angiogénico macromolecular seleccionado de siARN Z, pegaptanib, rambizumab y bevacizumab. La invención también se refiere a métodos para tratar y/o prevenir afecciones oculares, tales como afecciones oculares anteriores y afecciones oculares posteriores. En una realización preferida, la presente invención se refiere a composiciones terapéuticas de liberación prolongada y de liberación sostenida que comprenden geles, suspensiones, emulsiones y otras formulaciones  
10 líquidas oftálmicamente aceptables que comprenden un componente inductor de la viscosidad y un componente anti-angiogénico macromolecular.

Una composición farmacéutica (de manera sinónima una "composición") es una formulación que contiene al menos un ingrediente activo (un componente anti-angiogénico ("MAA") macromolecular ("MAAC")), junto con un componente que incrementa la viscosidad. En determinadas realizaciones, la composición también puede contener uno o más  
15 excipientes, tampones, vehículos, estabilizantes, conservantes y/o agentes de masa y es adecuada para la administración a un paciente para conseguir un efecto o resultado deseado. Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria pueden tener utilidad terapéutica en varias especies, tales como por ejemplo en pacientes o sujetos humanos.

Una variedad de afecciones oculares implican una enfermedad, dolencia o afección que afecta a o implica el ojo o una  
20 de las partes o regiones del ojo y se caracteriza en mayor o menor grado por angiogénesis (la formación de vasos sanguíneos nuevos).

Hablando de forma general, el ojo incluye el globo ocular y los tejidos y fluidos que constituyen el globo ocular, los músculos perioculares (tales como los músculos oblicuo y recto) y la parte del nervio óptico que está en o adyacente al  
25 globo ocular. Una afección ocular anterior es una enfermedad, dolencia o afección que afecta a o que implica una región o sitio ocular anterior (es decir, parte frontal del ojo), tal como un tejido o fluido de músculo periocular, párpado o globo ocular que está localizado anterior a la pared posterior de la cápsula de la lente o músculos ciliares. Así, una afección ocular anterior afecta a o implica principalmente la conjuntiva, la córnea, la conjuntiva, la cámara anterior, el iris, la cámara posterior (anterior a la retina pero en posterior respecto a la pared posterior de la cápsula de la lente), la lente o la cápsula de la lente y los vasos sanguíneos y nervios que vascularizan o inervan una región o sitio ocular anterior.

30 Una afección del segmento posterior (afección ocular posterior) del ojo es una enfermedad, dolencia o afección que afecta a o implica significativamente un tipo de tejido o célula en una región o sitio ocular posterior (esto es, en una posición posterior a un plano a través de la pared posterior de la cápsula de la lente), tal como las partes localizadas de acuerdo con esto del corioide o esclera, vítreo, cámara vítrea, retina, nervio óptico (es decir, el disco óptico) y vasos sanguíneos y nervios que vascularizan o inervan una región o sitio ocular posterior (o segmento posterior).

35 Así, una afección ocular posterior puede incluir una enfermedad, dolencia o afección, tal como por ejemplo, degeneración macular (tal como degeneración macular no exudativa relacionada con la edad y degeneración macular exudativa relacionada con la edad); neovascularización coroidal; neuroretinopatía macular aguda; edema macular (tal como edema macular cistoide y edema macular diabético); enfermedad de Behcet, trastornos retinianos, retinopatía diabética (incluyendo retinopatía diabética proliferativa); enfermedad oclusiva arterial retiniana; oclusión de la vena  
40 retiniana central; uveítis (incluyendo uveítis intermedia y anterior); desprendimiento de la retina; trauma ocular que afecta a un sitio o localización ocular posterior; una afección ocular posterior causada por o influida por un tratamiento láser ocular; afecciones oculares posteriores causadas por o influidas por una terapia fotodinámica; fotocoagulación; retinopatía por radiación; trastornos de la membrana epiretiniana; oclusión de la rama venosa retiniana; neuropatía óptica isquémica anterior; disfunción retiniana diabética no retinopatía, retinitis pigmentosa y glaucoma. El glaucoma puede considerarse una afección ocular posterior porque un objetivo terapéutico puede ser prevenir la pérdida de o  
45 reducir la aparición de pérdida de visión debida a daño en o pérdida de células retinianas o células del nervio óptico (es decir, neuroprotección). El crecimiento infiltrante de vasos sanguíneos nuevos puede interrumpir o destruir el tejido nervioso; así, la inhibición de la angiogénesis también puede considerarse para proporcionar protección a las neuronas afectadas.

50 El edema macular es una causa principal de pérdida de visión en los pacientes y puede acompañar a varias afecciones patológicas, incluyendo, sin limitación, diabetes, oclusión de la vena retiniana central (CRVO) y oclusión de la rama venosa retiniana (BRVO). Aunque la fotocoagulación con láser puede reducir más la pérdida de visión en pacientes con edema macular diabético (DME), la visión que ya ha disminuido por el edema macular por la muerte de células neurales habitualmente no mejora apreciablemente por el uso de la fotocoagulación con láser. Actualmente, no hay ningún

tratamiento aprobado por la FDA (Food and Drug Administration, EEUU) para el edema macular asociado con CRVO. Para el edema macular asociado con BRVO, la fotocoagulación con láser en rejilla puede ser un tratamiento eficaz para algunos pacientes.

5 El edema macular diabético se caracteriza por el trasvase anormal de macromoléculas, tales como lipoproteínas, desde los capilares retinianos al espacio extravascular seguido de un flujo de entrada oncótico de agua en el espacio extravascular. El trasvase puede ser causado por o exacerbado por el crecimiento de vasos sanguíneos nuevos (angiogénesis). Las anomalías en el epitelio del pigmento retiniano (RPE) también pueden causar o contribuir al edema macular diabético. Estas anomalías pueden permitir que haya una entrada incrementada de fluido desde los coriocapilares a la retina o pueden incrementar el flujo de salida normal de fluido desde la retina a los coriocapilares. La degradación de la barrera sangre-retina a nivel de los capilares retinianos y el epitelio del pigmento retiniano también puede verse acompañada o causada por cambios en las proteínas de unión estrecha. Antcliff R., et al Marshall J., *The Pathogenesis Of Edema In Diabetic Maculopathy*, Semin Ophthalmol 1999; 14: 223-232.

10 El edema macular de la enfermedad oclusiva venosa puede resultar de la formación de trombos en la lámina cribrosa o en un cruce arteriovenoso. Estos cambios pueden resultar en un incremento de la permeabilidad capilar retiniana y edema retiniano acompañante. El incremento en la permeabilidad capilar retiniana y posterior edema retiniano puede resultar de una degradación de la barrera sangre retina mediada en parte por el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), una glicoproteína de 45 kD. Se sabe que el VEGF puede incrementar la permeabilidad vascular; posiblemente incrementando la fosforilación de las proteínas de unión estrecha tales como ocludina y zonula occluden. De manera similar, en estados patológicos no oculares humanos tales como ascitis, VEGF se ha caracterizado como un factor de permeabilidad vascular (VPF) potente.

15 Bioquímicamente, se sabe que VEGF es un contribuyente principal al incremento del número de capilares en el tejido que experimenta angiogénesis. Las células endoteliales capilares bovinas proliferarán y mostrarán signos de estructuras en tubo *in vitro* después de la estimulación con VEGF. La regulación al alza de VEGF es un componente principal de la respuesta fisiológica al ejercicio y se sospecha que su papel en la angiogénesis es un tratamiento posible en las lesiones vasculares.

20 VEGF causa una cascada de señalización intracelular en las células endoteliales. La unión de VEGF al receptor de VEGF 2 (VEGFR-2) inicia una cascada de señalización de tirosina quinasa que estimula la producción de factores que estimulan de manera variada la permeabilidad de los vasos (óxido nítrico sintasa epitelial); (eNOS), proliferación/supervivencia (bFGF; factor de crecimiento de fibroblastos básico), migración (moléculas de adhesión intercelular (ICAM); moléculas de adhesión de células vasculares (VCAM); metaloproteasas de matriz (MMP)) y finalmente la diferenciación en vasos sanguíneos maduros. Como parte de la cascada de señalización angiogénica, se considera ampliamente que NO (óxido nítrico) es un contribuyente principal de la respuesta angiogénica porque la inhibición de NO reduce significativamente los efectos de los factores de crecimiento angiogénicos.

25 La retina humana normal contiene poco o nada de VEGF; sin embargo, la hipoxia causa una regulación al alza de la producción de VEGF. Los estados patológicos caracterizados por la regulación al alza de VEGF inducida por hipoxia incluyen, sin limitación, CRVO y BRVO. Esta regulación al alza de VEGF inducida por hipoxia puede inhibirse farmacológicamente. Pe'er J. et al., *Vascular Endothelial Growth Factor Upregulation In Human Central Retinal Vein Occlusion*, OPHTHALMOLOGY 1998; 105:412-416. Se ha demostrado que los anticuerpos anti-VEGF pueden inhibir la proliferación de las células endoteliales capilares dirigida por VEGF. Así, la atenuación de los efectos de VEGF introduce una base racional para el tratamiento del edema macular producido por enfermedad oclusiva venosa.

30 Además, la sobreexpresión de VEGF causa una permeabilidad incrementada de los vasos sanguíneos además de estimular la angiogénesis. En la degeneración macular "húmeda" o exudativa, VEGF causa la proliferación de los capilares en la retina. Como el incremento de la angiogénesis también causa edema, la sangre y otros fluidos retinianos se trasvasan en la retina causando pérdida de visión. Un tratamiento nuevo para la degeneración macular es usar un MAAC, tal como un aptámero que inhibe VEGF, u otro compuesto que inhibe VEGF, de manera que se pare la cascada de señalización principal de la angiogénesis, previniendo de esta manera estos síntomas.

35 La solicitud de patente europea 244 178 A2 (Keller) describe la inyección intravítrea de una disolución acuosa de dexametasona, un esteroide, y un ácido hialurónico (HA). Einmahl S. et al, *Evaluation Of A Novel Biomaterial In The Suprachoroidal Space Of The Rabbit Eye*, INVEST OPHTHAL & VIS SCI 43(5); 1533-1539 (2002) discute la inyección de un poli (orto éster) en el espacio supracoroidal y Einmahl S. et al, *Therapeutic Applications Of Viscous And Injectable Poly (Ortho Esters)*, ADV DRUG DEL REV 53 (2001) 45-73, describe que un polímero de poli orto éster que contiene fluorouracilo se degrada de manera importante cinco días después de la administración intravítrea. La Publicación de Patente Europea EP 0 244 178 describe composiciones de HA para inyección intraocular que contienen antibióticos o agentes anti-inflamatorios. Della Valle et al., Patente EEUU No. 5.166.331 discute la purificación de diferentes fracciones de HA para uso como un sustituto para los fluidos intraoculares y como un vehículo de fármaco oftálmico tóxico.

Se conocen formulaciones de macromoléculas para uso intraocular, Véase por ejemplo las solicitudes con número de serie 11/370.301; 11/351.761; 11/364.687; 60/721.600; 11/116.698 y 60/567.423. Además, se conocen formulaciones de un inhibidor de tirosina quinasa en un gel con viscosidad alta para uso ocular. Véase por ejemplo la solicitud de patente EEUU con número de serie 11/695.527. Además, se conoce el uso del esteroide triamcinolona en un gel con una viscosidad alta para uso ocular. Véanse por ejemplo las solicitudes de patente EEUU con números de serie 10/966.764; 11/091.977; 11/354.415; 60/519.237, y; 60/530.062. Respecto al uso de un inhibidor de tirosina quinasa en un gel con una viscosidad alta véase la solicitud EEUU con número de serie 11/695.527.

### RESUMEN

En una realización, la presente invención proporciona formulaciones que comprenden uno o más MAAC en un vehículo viscoso biocompatible adecuado para inyección o colocación intraocular (incluyendo, sin limitación, intravítreo, subconjuntivo y subretiniano) para tratar la angiogénesis ocular, particularmente la angiogénesis en la retina, incluyendo la mácula; el corioide, la esclera y otras características del segmento posterior del ojo, como puede manifestarse en el desarrollo, por ejemplo, de edema macular, degeneración macular seca y húmeda, particularmente degeneración macular exudativa, retinopatía diabética y otros trastornos y enfermedades que implican angiogénesis. En una realización preferida, el vehículo comprende un componente de ácido hialurónico, preferiblemente al menos un componente de ácido polihialurónico con un peso molecular definido.

#### Definiciones

Tal y como se usan en la presente memoria, las palabras o términos mostrados a continuación tienen las definiciones siguientes.

"Administración", o "administrar" significa la etapa de dar (es decir, proporcionar) una composición farmacéutica a un sujeto. Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria pueden "administrarse localmente", es decir administrarse en o cerca del sitio en el que se desea un resultado o desenlace terapéutico. Por ejemplo, para tratar una afección ocular (tal como por ejemplo un edema macular o degeneración macular) puede realizarse una inyección o implante intravítreo de una composición terapéutica tal como una composición viscosa que contiene un agente activo y es un ejemplo de administración local.

"Completamente sin" (es decir, terminología "que consiste en") significa que en el rango de detección del instrumento o proceso que se usa o referencia, la sustancia no puede detectarse o su presencia no puede confirmarse de manera concluyente.

"Esencialmente sin" significa que sólo pueden detectarse cantidades traza de otras sustancias o una sustancia de referencia (tal como cantidades traza que no tienen un efecto sustancial en la aplicación).

Por un agente terapéutico o componente anti-angiogénico "macromolecular" se quiere decir que un agente terapéutico consiste en, consiste esencialmente en, o comprende un péptido u oligonucleótido tal y como dichos términos se definen en la presente memoria.

Por una "afección ocular" se quiere decir una enfermedad, dolencia o afección que afecta a o implica el ojo o una de las partes o regiones del ojo. Hablando en general, 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 parte del nervio óptico que está en o adyacente al globo ocular.

Una "afección ocular anterior" es una enfermedad, dolencia o afección que afecta a o que implica una región o sitio ocular anterior (es decir, parte frontal del ojo), tal como un tejido o fluido de músculo periorbital, párpado o globo ocular que está localizado anterior a la pared posterior de la cápsula de la lente o músculos ciliares. Así, una afección ocular anterior afecta a o implica principalmente la conjuntiva, la córnea, la cámara anterior, el iris, la cámara posterior (detrás de la retina pero delante de la pared posterior de la cápsula de la lente), la lente o la cápsula de la lente y los vasos sanguíneos y nervios que vascularizan o inervan una región o sitio ocular anterior.

Así, una afección ocular anterior puede incluir una enfermedad, dolencia o afección, tal como por ejemplo, afaquia; pseudoafaquia; astigmatismo; blefaroespasmos; cataratas; enfermedades de la conjuntiva; conjuntivitis; enfermedades de la córnea; úlceras en la córnea; síndromes del ojo seco; enfermedades de los párpados; enfermedades del aparato lacrimal; obstrucción del conducto lacrimal; miopía; presbicia; trastornos de la pupila; trastornos refractivos y estrabismo. El glaucoma también puede considerarse una afección ocular anterior porque un objetivo clínico del tratamiento del glaucoma puede ser reducir una hipertensión del fluido acuoso en la cámara anterior del ojo (es decir, reducir la presión intraocular).

Una "afección ocular posterior" es una enfermedad, dolencia o afección que afecta a o implica significativamente una región o sitio ocular posterior tal como corioide o esclera (en una posición posterior a un plano a través de la pared

posterior de la cápsula de la lente), vítreo, cámara vítrea, retina, epitelio del pigmento retiniano, membrana de Bruch, nervio óptico (es decir, el disco óptico) y vasos sanguíneos y nervios que vascularizan o inervan una región o sitio ocular posterior.

5 Así, una afección ocular posterior puede incluir una enfermedad, dolencia o afección, tal como por ejemplo, neuroretinopatía macular aguda; enfermedad de Behcet; neovascularización coroidal; uveitis diabética; histoplasmosis; infecciones, tales como infecciones causadas por hongos o virus; degeneración macular, tal como degeneración macular aguda, degeneración macular no exudativa relacionada con la edad y degeneración macular exudativa relacionada con la edad; edema, tal como edema macular, edema macular cistoide y edema macular diabético; coroiditis multifocal; trauma ocular que afecta un sitio o localización ocular posterior; tumores oculares, trastornos retinianos, tal como  
10 oclusión de la vena retiniana central; retinopatía diabética (incluyendo retinopatía diabética proliferativa), vitreoretinopatía proliferativa (PVR), enfermedad oclusiva arterial retiniana, desprendimiento de la retina, enfermedad retiniana uveítica; oftalmia simpática; síndrome de Vogt Koyanagi-Harada (VKH); difusión uveal; una afección ocular posterior causada por o influida por un tratamiento ocular con láser; afecciones oculares posteriores causadas por o influidas por una terapia fotodinámica, fotocoagulación, retinopatía por radiación, trastornos de la membrana epiretiniana, oclusión de la rama venosa retiniana; neuropatía óptica isquémica anterior, disfunción retiniana diabética no retinopatía, retinitis pigmentosa y glaucoma. El glaucoma puede considerarse una afección ocular posterior porque el objetivo terapéutico es prevenir la pérdida de o reducir la aparición de pérdida de visión debida a daño en o pérdida de células retinianas o células del nervio óptico (es decir, neuroprotección).

20 "Composición farmacéutica" significa una formulación en la que un ingrediente activo (el agente activo) es un inhibidor de la angiogénesis, tal como un MAAC. La palabra "formulación" significa que hay al menos un ingrediente adicional en la composición farmacéutica aparte del ingrediente activo. Una composición farmacéutica es, por lo tanto, una formulación que es adecuada para la administración terapéutica (por ejemplo, por inyección intraocular o por inserción de un depósito o implante) en un sujeto, tal como un paciente humano.

25 El término "péptido", "polipéptido" y proteína incluye L-aminoácidos, R-aminoácidos y peptidomiméticos naturales y no naturales. Un peptidomimético comprende una molécula semejante a un péptido que es capaz de servir como modelo para un sustrato peptídico sobre el que está basado estructuralmente. Dichos peptidomiméticos incluyen péptidos modificados químicamente, moléculas semejantes a péptidos que contienen aminoácidos no naturales y peptoides que son moléculas semejantes a péptidos que resultan del ensamblaje oligomérico de glicinas N-sustituidas (véase, por ejemplo, Goodman y Ro, Peptidomimetics for Drug Design, en "Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery" Vol. 1  
30 (ed. M.E. Wolff; John Wiley & Sons 1995), páginas 803-861).

En la técnica se conocen varios peptidomiméticos incluyendo, por ejemplo, moléculas semejantes a péptidos que contienen un aminoácido constreñido, un componente no peptídico que mimetiza la estructura secundaria de los péptidos o un isómero de enlace amida. Un peptidomimético que contiene un aminoácido constreñido, no natural puede incluir, por ejemplo, un aminoácido  $\alpha$ -metilado; una  $\alpha,\alpha$ -dialquil-glicina o ácido carboxílico  $\alpha$ -aminocicloalcano; un aminoácido  $N\alpha$ -C $\alpha$  ciclado; un aminoácido  $N\alpha$ -metilado; un ácido carboxílico  $\beta$  o  $\gamma$ -amino cicloalcano; un aminoácido  $\alpha,\beta$ -insaturado; un  $\beta,\beta$ -dimetil o  $\beta$ -metil aminoácido; un 2,3-metano aminoácido sustituido en  $\beta$ ; un aminoácido NC $\delta$  o C $\alpha$ -C $\delta$  ciclado; o una prolina sustituida u otro mimético de aminoácido. Además, un peptidomimético que mimetiza la estructura secundaria de los péptidos puede contener, por ejemplo, un mimético de giro  $\beta$  no peptídico; mimético de giro  $\gamma$ ; mimético de estructura de lámina  $\beta$ ; o mimético de estructura helicoidal, cada uno de los cuales es muy conocido en la técnica. Un peptidomimético también puede ser una molécula semejante a péptido que contiene, por ejemplo, un isómero de enlace amida tal como una modificación retro-inversa; enlace amida reducido; enlace metilenoéter o metilensulfóxido; enlace metileno éter; enlace etileno; enlace tioamida; enlace trans-olefina o fluoroolefina; anillo tetrazol 1,5-disustituido; enlace cetometileno o fluorocetometileno u otros isómeros de enlace amida. Un experto en la técnica entiende que éstos y otros peptidomiméticos están englobados en el significado del término "peptidomimético" tal y como se usa en la presente memoria. El término "polipéptido" incluirá los peptidomiméticos a no ser que se indique expresamente otra cosa.

"Sustancialmente sin" significa presente a un nivel de menos del uno por ciento en peso de la composición farmacéutica.

50 El término "tratar", "tratando" o "tratamiento" tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a la reducción o resolución o prevención de una afección ocular, lesión o daño ocular o a la estimulación de la cicatrización del tejido ocular lesionado o dañado.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" tal y como se usa en la presente memoria, se refiere al nivel o cantidad de agente que se necesita para tratar una afección ocular o para reducir o prevenir lesión o daño ocular sin causar efectos secundarios negativos o adversos significativos en el ojo o en una región del ojo.

Un "oligonucleótido" o "ácido nucleico" según la presente invención puede comprender dos o más desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos naturales o no naturales unidos por un enlace fosfodiéster o por un enlace que mimetiza un enlace fosfodiéster en un grado terapéuticamente útil. Según la presente invención, un oligonucleótido se considerará normalmente monocatenario a no ser que sea obvia otra cosa a partir del contexto, y un ácido nucleico puede ser monocatenario o bicatenario. Además, un oligonucleótido o ácido nucleico puede contener uno o más nucleótidos modificados; dicha modificación puede hacerse con el fin de mejorar la resistencia a nucleasas del oligonucleótido, para mejorar la capacidad de hibridación (es decir, elevar la temperatura de fusión o  $T_m$ ) del oligonucleótido resultante, para ayudar en el direccionamiento o inmovilización del oligonucleótido o ácido nucleico o para algún otro propósito.

Dichas modificaciones pueden incluir derivados de oligonucleótidos que tienen modificaciones en la base nitrogenada, incluyendo el reemplazo del grupo amino en la posición 6 de la adenosina por hidrógeno para rendir purina; sustitución del oxígeno 6-ceto de la guanosina con hidrógeno para rendir 2-amino purina o con azufre para rendir 6-tioguanosina y reemplazo del oxígeno 4-ceto de la timidina con azufre o hidrógeno para rendir, respectivamente, 4-tiotimidina ó 4-hidrotimidina. Todos estos análogos de nucleótidos pueden usarse como reactantes para la síntesis de los oligonucleótidos. En la técnica se conocen otras bases sustituidas. Véase, por ejemplo, Cook et al., Publicación Internacional No. WO 92/02258, titulada "*Nuclease Resistant, Pyrimidine Modified Oligonucleotides that Detect and Modulate Gene Expression*". Los derivados de nucleótidos con bases modificadas pueden obtenerse comercialmente para la síntesis de oligonucleótidos.

De manera similar, se han indicado varios derivados de nucleótidos que tienen modificaciones en el resto ribofuranosilo o desoxirribofuranosilo. Véase, por ejemplo, Cook et al., Publicación Internacional No. WO 94/19023, titulada "*Cyclobutyl Antisense Oligonucleotides, Methods of Making and Use Thereof*"; McGee et al., Publicación Internacional No. WO 94/02501, titulada "*Novel 2'-O-Alkyl Nucleosides and Phosphoramidites Processes for the Preparation and Uses Thereof*"; y Cook, Publicación Internacional No. WO 93/13121, titulada "*Gapped 2'-Modified Oligonucleotides*".

La mayor parte de los oligonucleótidos que comprenden dichas bases modificadas se han formulado con la intención de que tengan una captación celular, resistencia a nucleasas incrementadas y/o unión al sustrato incrementada. En otras palabras, dichos oligonucleótidos se describen como agentes terapéuticos para la modulación de genes.

Los ácidos nucleicos que tienen residuos de nucleótidos modificados existen en la naturaleza. Así, dependiendo del tipo o fuente, las bases modificadas en el ARN pueden incluir bases metiladas o dimetiladas, bases desaminadas, bases carboxiladas, bases tioladas y bases que tienen varias combinaciones de estas modificaciones. Además, se sabe que las bases 2'-O-alkiladas están presentes en ácidos nucleicos naturales. Véase, por ejemplo, Adams et al., *The Biochemistry of the Nucleic Acids* (11ª ed 1992).

Los valores de viscosidad en la especificación o las reivindicaciones significan la viscosidad a 25°C, a no ser que se indique específicamente otra cosa.

Cada intervalo de valores (cantidades, viscosidades, temperaturas y semejantes) incluye específicamente, y debe considerarse que contiene una descripción escrita completa de, todos los valores y sub-intervalos entre el mínimo y el máximo.

Las presentes composiciones son altamente adecuadas para la administración intravítrea en los segmentos posteriores de los ojos sin requerir ninguna etapa de lavado, a la vez que proporcionan un daño ocular reducido, por ejemplo, retiniano cuando se usan en un ojo. Globalmente, las presentes composiciones se pueden inyectar fácilmente y eficazmente en el segmento posterior de un ojo de un ser humano o un animal. Una ventaja de las formulaciones de la presente invención es que el MAAC está presente en un vehículo viscoso que comprende un componente inductor de la viscosidad que es biológicamente compatible, esto es, no tiene efectos perjudiciales o citotóxicos sustanciales en las células del ojo.

En un aspecto amplio de la presente invención, se proporcionan composiciones útiles para inyección en un segmento posterior de un ojo de un ser humano o un animal. Dichas composiciones comprenden un MAAC, un componente inductor de la viscosidad y un componente vehículo acuoso. El MAAC está presente en una cantidad terapéuticamente eficaz. El MAAC está presente preferiblemente en las composiciones en disolución, pero puede estar presente inicialmente en forma algo o parcialmente insoluble, tal como en varias partículas.

Las presentes composiciones pueden incluir un MAAC en una cantidad de hasta 25% (p/v) o más de la composición. En una realización muy útil, el MAAC está presente en una cantidad de hasta al menos 80 mg/ml de composición. Preferiblemente, el MAAC está presente en una cantidad en un intervalo de 1% a 10% ó 20% (p/v) de la composición, ó 0,05 mg por 100  $\mu$ l, ó 0,1 mg por 100  $\mu$ l, ó 0,2 mg por 100  $\mu$ l, ó 0,4 mg por 100  $\mu$ l, ó 0,5 mg por 100  $\mu$ l, ó 1,0 mg por 100  $\mu$ l, ó 2,0 mg por 100  $\mu$ l, ó 4,0 mg por 100  $\mu$ l, ó 5,0 mg por 100  $\mu$ l, ó 6,0 mg por 100  $\mu$ l, ó 7,0 mg por 100  $\mu$ l, ó 8,0 mg por 100  $\mu$ l, ó 10 mg por 100  $\mu$ l, ó 20 mg por 100  $\mu$ l, ó 40 mg por 100  $\mu$ l, ó 60 mg por 100  $\mu$ l, ó 80 mg por 100  $\mu$ l o cualquiera de los intervalos o concentraciones entre 0,05 mg por 100  $\mu$ l y 80 mg por 100  $\mu$ l.

En particular, los MAAC de la presente invención son inhibidores de la angiogénesis, particularmente de la angiogénesis ocular, tal como neovascularización coroidal (CNV) que acompaña a una afección tal como degeneración macular, en particular, aunque no exclusivamente, degeneración macular exudativa, retinopatía diabética, isquemia retiniana y edema macular.

5 El factor de crecimiento del epitelio vascular (VEGF-A) es un nombre genérico para una familia de proteínas de señalización implicadas en la angiogénesis (el crecimiento de vasos sanguíneos a partir de la vasculatura preexistente). VEGF también incrementa la permeabilidad microvascular. Esta familia de proteínas comprende variantes de corte y empalme que resultan del corte y empalme alternativo de un único gen. Hay otras proteínas semejantes a VEGF, incluyendo VEGF-B, VEGF-C y VEGF-D y PIGF.

10 Todos los miembros de la familia VEGF estimulan las respuestas celulares por unión a receptores tirosina quinasa (los VEGFR) en la superficie celular. La unión del ligando induce la dimerización que activa la actividad tirosina quinasa del receptor. Esto da lugar a la autofosforilación del receptor y al inicio de las cascadas de transducción de la señal intracelulares que causan que los receptores se dimericen y se activen mediante transfosforilación que implica a la tirosina quinasa. Los receptores de VEGF tienen una parte extracelular que consiste en 7 dominios semejantes a  
15 inmunoglobulinas, una única región que se extiende transmembrana y una parte intracelular que contiene un dominio dividido tirosina quinasa.

Se han llevado a cabo varias estrategias para inhibir VEGF en sí mismo o el VEGF presente en el ojo con el fin de evitar la angiogénesis. Así, se han investigado anticuerpos monoclonales tales como ranibizumab (LUCENTIS®; rhuFab V2) o bevacizumab (AVASTIN®; rhuMab-VEGF) y ácidos nucleicos (aptámeros tales como MACUGEN®, (pegaptanib) un  
20 aptámero de ARN PEGilado y siARN dirigidos al ARN de VEGF) para el tratamiento de la angiogénesis asociada con afecciones del segmento posterior.

Como se ha indicado anteriormente, se sabe que la hipoxia regula al alza la expresión de VEGF y se ha mostrado que la expresión de VEGF está correlacionada con la neovascularización del iris en modelos de primates de oclusión isquémica de la vena retiniana y neovascularización retiniana. La inyección de VEGF en los ojos normales de primates produce la  
25 neovascularización del iris, glaucoma neovascular y microangiopatía retiniana. La inhibición de VEGF mediante el uso de proteínas quiméricas que actúan como receptores de VEGF solubles suprime la neovascularización en estos modelos.

Los estudios clínicos en seres humanos también han confirmado la asociación entre la expresión de VEGF con la neovascularización ocular patológica. Las mediciones de los niveles de VEGF vítreo demostraron unas concentraciones de VEGF significativamente mayores en pacientes con retinopatía diabética proliferativa activa comparado con pacientes  
30 con otros trastornos retinianos que no se caracterizan por el crecimiento anormal de los vasos sanguíneos. Otro estudio que analizó los niveles de VEGF tanto acuosos como vítreos en varias afecciones caracterizadas por neovascularización ocular correlacionó las concentraciones elevadas de VEGF en los fluidos oculares de los pacientes con neovascularización activa.

La inhibición de la angiogénesis (y particularmente la angiogénesis asociada con VEGFR) en el segmento posterior del ojo puede conseguirse usando cualquiera de varios MAAC que tienen actividad frente a la activación de VEGFR, bien  
35 directamente o a través de la inhibición del VEGF en sí mismo.

Según una realización principal de la presente invención, el componente terapéutico descrito en la presente memoria comprende uno o más MAAC.

Los agentes terapéuticos macromoleculares según la presente invención incluyen péptidos, polipéptidos, proteínas, oligonucleótidos y ácidos nucleicos. En realizaciones particularmente preferidas de la invención, el agente terapéutico puede comprender una proteína, un anticuerpo policlonal o monoclonal, un fragmento de anticuerpo, tal como un  
40 fragmento de papaína monovalente que se une a una fracción de antígeno (Fab) o un fragmento de pepsina bivalente que se une a una fracción de antígeno (F'ab<sub>2</sub>). Además, los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo pueden ser naturales u obtenidos por ingeniería genética. Por ejemplo, el término "anticuerpos" puede incluir anticuerpos quiméricos que comprenden regiones L<sub>c</sub> y H<sub>c</sub> humanas y regiones L<sub>v</sub> y H<sub>v</sub> de otra especie, por ejemplo, de células de ratón. Los anticuerpos quiméricos son útiles en el diseño de fármacos basados en anticuerpos, ya que el uso de anticuerpos de ratón no alterados induce la producción de inmunoglobulinas humanas anti-ratón y el aclaramiento y reducción resultantes de la eficacia.

Sin embargo, los anticuerpos quiméricos, aunque tienen inmunogenicidad reducida comparada con el anticuerpo de roedor, no resuelven todos los problemas que existen con el uso de anticuerpos como fármacos. Por ejemplo, para  
50 minimizar la variación alotípica en las regiones constantes puede usarse una secuencia consenso humana que representa el alotipo más común en la población general. Se ha usado un refinamiento adicional, denominado injerto de la región determinante de la complementariedad (CDR). En este método, sólo los tres sitios de unión al antígeno (formados por las tres CDR de la cadena pesada y las tres CDR de la cadena ligera) se escinden de los anticuerpos

murinos y las regiones de ácido nucleico que codifican estas CDR se han insertado (o "injertado") en una secuencia codificadora de ácido nucleico que codifica la región marco del anticuerpo humano.

Los refinamientos adicionales pueden comprender lo que se ha denominado "remoldeado", "modificación en superficie" e "hiperquimerización". En el remoldeado, la región variable de roedor se compara con la secuencia consenso del subgrupo de secuencia proteica al que pertenece, como el marco humano comparado con un consenso de la secuencia marco para la familia de anticuerpos a la que pertenece. Este análisis puede identificar residuos de aminoácidos que pueden resultar de la mutación durante el proceso de maduración por afinidad; estos residuos se denominan "idiosincráticos". Mediante la incorporación de los residuos humanos más comunes en estas posiciones, pueden minimizarse los problemas de inmunogenicidad que resultan de los residuos idiosincráticos.

La humanización por hiperquimerización implica una comparación de las secuencias de la región variable no CDR humana y murina y la que tiene la mayor homología se selecciona como el marco aceptor. De nuevo, los residuos idiosincráticos se reemplazan por los humanos más altamente conservados. Estos residuos no CDR que pueden interactuar con los residuos CDR se identifican y se insertan en la secuencia marco.

La modificación en superficie implica la determinación de la conformación tridimensional de un anticuerpo murino humanizado y el reemplazo de los aminoácidos expuestos en la superficie por aquellos encontrados comúnmente en los anticuerpos humanos. En la primera etapa, las regiones variables humanas más homólogas se seleccionan y se comparan con las regiones variables de ratón correspondientes. En la segunda etapa, los residuos marco de ratón que se diferencian del marco humano se reemplazan por los residuos humanos; sólo se cambian los residuos expuestos completamente o parcialmente en la superficie del anticuerpo.

Aunque la humanización de los anticuerpos proporciona ventajas terapéuticas no disponibles con el uso de anticuerpos murinos o quiméricos solo, se han preparado por ingeniería nuevas clases de agentes peptídicos y de ácidos nucleicos para unirse fuertemente a una diana deseada antagonizando de esta manera la actividad normal de la diana.

Por ejemplo, las fibronectinas y las moléculas relacionadas con la fibronectina (de aquí en adelante referidas colectivamente como "fibronectinas") son glicoproteínas multi-dominio encontradas en una forma soluble en el plasma y en una forma insoluble en el tejido conectivo laxo y membranas de basamento. Contienen múltiples copias de 3 regiones repetidas (tipos I, II y III), que se unen a varias sustancias incluyendo heparina, colágeno, ADN, actina, fibrina y receptores de fibronectina en las superficies celulares. Las fibronectinas están implicadas en varias funciones importantes: por ejemplo, cicatrización de heridas; adhesión celular; coagulación de la sangre; diferenciación y migración celulares; mantenimiento del citoesqueleto celular; y metástasis tumoral. El papel de la fibronectina en la diferenciación celular se demuestra por la reducción importante de la expresión de su gen cuando se produce la transformación neoplásica. Se ha encontrado que la unión celular está mediada por la unión del tetrapéptido RGDS a las integrinas en la superficie celular aunque secuencias relacionadas también pueden presentar actividad de adhesión celular.

La fibronectina plasmática aparece como un dímero de 2 subunidades diferentes, unidas entre sí por 2 puentes disulfuro cerca del extremo C terminal. La diferencia en las 2 cadenas aparece en la región repetida de tipo III y está causada por el corte y empalme alternativo del ARNm de un gen.

La región repetida de fibronectina de tipo III (FnIII) es un dominio de aproximadamente 100 aminoácidos, del que diferentes repeticiones en tándem contienen los sitios de unión para el ADN, heparina y la superficie celular. La superfamilia de secuencias que se cree que contiene repeticiones FnIII representa 45 familias diferentes, la mayoría de las cuales están implicadas de alguna manera en la unión a la superficie celular o son proteínas receptoras tirosina quinasas o receptores de citoquina.

Como la característica común de las fibronectinas es que están implicadas en la unión intermolecular y debido a la estructura en andamio común de la molécula de fibronectina, dichas moléculas son moldes muy útiles para preparar y producir moléculas con unión selectiva capaces de actuar como miméticos de anticuerpos. Dichos miméticos de anticuerpos proporcionarán habitualmente interferencia evitando la interacción de la molécula o resto de "antígeno" diana con un equivalente de unión, tal como un receptor selectivo o específico. Así, dichas moléculas de fibronectina que se unen selectivamente comprenden moldes ideales para preparar, por ejemplo, antagonistas de receptores.

Los bucles FnIII comprenden regiones que pueden someterse a mutación aleatoria y esquemas evolutivos dirigidos de ciclos iterativos de unión a diana, selección y mutación adicional con el fin de desarrollar herramientas terapéuticas útiles. Las moléculas de unión terapéuticas "direccionables" basadas en fibronectina (de aquí en adelante "FATBIM") pueden ser útiles en la inhibición de determinados ligandos o receptores oftálmicamente perjudiciales, tales como VEGF. Las FATBIM incluyen la especie de moléculas de unión basada en fibronectina denominada ADNECTINS™ de Adnexus (conocida anteriormente como Compound Therapeutics, Inc.).



Ya tenga una naturaleza de ácido nucleico o polipéptido, los componentes terapéuticos macromoleculares presentan retos específicos cuando se preparan sistemas de administración de fármacos intraoculares. La formulación del fármaco debe ser, por encima de todo, sustancialmente no tóxica para los tejidos intraoculares. Cuando dicha formulación comprende un vehículo líquido, es muy ventajoso para el componente vehículo poseer un índice de refracción que es sustancialmente similar al del humor acuoso o el humor vítreo (dependiendo de en qué cámara se introduce la formulación), de manera que la visión del paciente no se ve sustancialmente afectada adversamente, como por cambios en la focalización, después de la administración, por ejemplo inyección, de la composición terapéutica en los tejidos intraoculares. Las formulaciones que tienen un índice de refracción de agua (aproximadamente 1,33, dependiendo de la longitud de onda de la luz), por ejemplo, podrían crear una diferencia suficiente en el índice de refracción en el límite de la formulación inyectada y el humor vítreo después de la inyección que afecte adversamente la visión del paciente durante un tiempo después de la administración.

Además, dado el plegamiento complejo necesario para proporcionar a las proteínas su actividad biológica, es sorprendente que una disolución que comprende concentraciones relativamente altas de un componente dado que incrementa la viscosidad, tal como ácido hialurónico al 2%, a un pH dado, tal como entre 6,5 a 8,0, permita a los MAAC macromoleculares, tales como proteínas o polipéptidos, retener una conformación biológicamente activa sin desnaturalización. Al contrario que las moléculas "pequeñas", que o carecen de una estructura terciaria o son menos dependientes para su actividad de su conformación tridimensional, las proteínas son capaces de desnaturalizarse por cualquiera de varios cambios en su entorno, incluyendo calor, frío, altas concentraciones de sal, la presencia de caotropos (agentes que causan la disrupción de la estructura molecular; en particular, aquellas estructuras formadas por fuerzas no de enlace tales como enlace de hidrógeno, interacciones de Van der Waals y el efecto hidrofóbico).

De manera similar, determinados ácidos nucleicos, requieren el mantenimiento de una conformación tridimensional dada con el fin de retener su actividad MAAC deseada. Esto es particularmente cierto para determinados aptámeros de ácido nucleico, que se basan en una actividad biológica, tal como una actividad inhibidora enzimática o de receptor para su actividad. Esto también es cierto para ácidos nucleicos enzimáticos tales como ribozimas. De nuevo, es sorprendente que altas concentraciones de un componente que incrementa la viscosidad en una formulación de fármaco no den lugar a la pérdida de esta actividad mediante el desplegamiento y desnaturalización de la estructura terciaria de los ácidos nucleicos.

En determinadas realizaciones, la formulación de la presente invención puede comprender una suspensión de partículas o cristales que comprende el componente terapéutico o de polímeros biodegradables en los que o en la superficie de los que se deposita o incorpora una población del componente terapéutico. Por ejemplo, las partículas pueden comprender una micropartícula biodegradable, tal como una microesfera o nanoesfera y son capaces de ser inyectadas o situadas quirúrgicamente en el segmento anterior o posterior del ojo de mamíferos.

En una realización preferida, el componente MAA es insoluble y forma una suspensión de partículas o cristales. En el caso de componentes MAA muy solubles en agua tales como oligonucleótidos, puede usarse la formación de complejos por carga para crear dichas partículas. Por ejemplo, pueden usarse policationes tales como polilisina o protamina para formar complejos insolubles con polianiones tales como oligonucleótidos. Es más probable que los fármacos macromoleculares en suspensión permanezcan químicamente estables durante el almacenamiento a largo plazo que en disolución acuosa.

En una realización, una formulación de administración de fármacos intraocular comprende un componente terapéutico que comprende un agente terapéutico macromolecular no neurotóxico y un componente inductor de la viscosidad. En determinadas realizaciones, la formulación también puede contener un componente polimérico asociado con el componente terapéutico para permitir que el componente terapéutico se libere en el interior de un ojo de un individuo durante al menos una semana después de que el sistema de administración del fármaco se pone en el ojo.

Según la presente invención, el componente terapéutico de los presentes sistemas puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir completamente en, agentes anti-angiogénicos, incluyendo agentes neuroprotectores, o una combinación de éstos. El componente terapéutico también puede comprender uno o más de los agentes terapéuticos auxiliares siguientes: agentes bactericidas, factores de crecimiento, inhibidores de factores de crecimiento, citoquinas, agentes reductores de la presión intraocular, agentes terapéuticos para la hemorragia ocular y combinaciones de éstos. En realizaciones particularmente preferidas, el componente terapéutico puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, un agente terapéutico seleccionado del grupo que consiste en ácidos ribonucleicos de interferencia cortos Z (siARN Z) ranibizumab (vendido con el nombre de LUCENTIS<sup>®</sup>), bevacizumab (vendido con el nombre AVASTIN<sup>®</sup>) y pegaptanib, tal como MACUGEN<sup>®</sup>, (inhibidores de VEGF o VEGFR). Ventajosamente, el agente terapéutico está disponible en una forma biológicamente activa cuando la presente formulación se pone en un ojo.

En una realización, la presente composición comprende, sin excepción, un MAAC que incluye una macromolécula, tal como una proteína, péptido (incluyendo proteínas o péptidos modificados y/o peptidomiméticos) o un ácido nucleico o

ácido nucleico modificado, tal como uno que contiene residuos de nucleósido o ribonucleósido modificados y un ácido nucleico peptídico u otro mimético nucleico. El MAAC es siARN Z, pegaptanib, rambizumab o bevacizumab. Los MAAC orgánicos, no macromoleculares se referirán en la presente memoria como "componentes de molécula pequeña".

5 El componente inductor de la viscosidad de las presentes composiciones está presente en una cantidad eficaz para incrementar la viscosidad de la composición, que es habitualmente una composición acuosa, preferiblemente en forma de fluido o de gel. Además, el componente inductor de la viscosidad no desnaturaliza o despliega sustancialmente la estructura terciaria del componente macromolecular del MAAC. El componente inductor de la viscosidad es muy preferiblemente sustancialmente o totalmente transparente. Manteniendo estas directrices, cualquier componente inductor de la viscosidad adecuado, oftálmicamente aceptable puede emplearse según la presente invención. Los  
10 componentes inductores de la viscosidad se han propuesto, conocido y/o usado en las composiciones oftálmicas para el tratamiento del ojo. Ventajosamente, el componente inductor de la viscosidad está presente en una cantidad en un intervalo de 0,5% a 20% (p/v) de la composición. El componente inductor de la viscosidad es un componente polímero de ácido hialurónico, tal como hialuronato de sodio.

15 En una realización particularmente preferida, el componente inductor de la viscosidad es sustancialmente transparente en disolución y está presente en una cantidad tal que el índice de refracción de la composición que contiene MAAC resultante es sustancialmente similar al del humor vítreo, con el fin de evitar cambios perjudiciales en la visión después de la administración (tal como administración intraocular) de la composición a un paciente. Esto es particularmente deseable si la composición se inyecta en el segmento posterior del ojo. En dichos casos, preferiblemente el índice de refracción de la composición que contiene MAAC resultante es sustancialmente idéntico al del humor vítreo. Sin  
20 embargo, estos parámetros pueden ser menos críticos cuando la composición se administra por otros medios, por ejemplo, mediante administración subconjuntival o subretiniana.

25 En una realización, las presentes composiciones tienen una viscosidad de al menos 10 mPa.s (cps) o al menos 100 mPa.s (cps), preferiblemente al menos 1.000 mPa.s (cps), más preferiblemente al menos 10.000 mPa.s (cps) y aún más preferiblemente al menos 70.000 mPa.s (cps), por ejemplo, hasta 250.000 mPa.s (cps) ó 300.000 mPa.s (cps), a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo a aproximadamente 25°C. Preferiblemente, las presentes composiciones están estructuradas o formuladas para ser inyectadas eficazmente, por ejemplo, manualmente, en un segmento posterior de un ojo de un ser humano o animal, preferiblemente mediante una aguja de calibre 27, más preferiblemente mediante una aguja de calibre 29 ó 30.

30 Sin desear limitar la invención a ninguna teoría particular de operación, se cree que el uso de composiciones con una viscosidad relativamente alta, como se describe en la presente memoria, proporciona una administración eficaz, y preferiblemente sustancialmente de larga duración, del MAAC, mientras que al mismo tiempo es inyectable en el segmento posterior de un ojo mediante agujas usadas convencionalmente o incluso más pequeñas que las convencionales. En realizaciones en las que el MAAC se administra en parte como partículas marginalmente o lentamente solubles, el componente inductor de la viscosidad también es eficaz para ayudar en el mantenimiento de las  
35 partículas en suspensión, en lugar de ser solamente depositado principalmente o en su mayoría en la superficie inferior del segmento posterior del ojo.

40 En una realización de la invención, el MAAC está presente en varias partículas que están suspendidas sustancialmente uniformemente en la composición y permanecen suspendidas sustancialmente uniformemente en la composición durante al menos 1 semana, preferiblemente al menos 2 semanas o al menos 1 mes y aún más preferiblemente al menos 6 meses o al menos 1 año o al menos 2 años, sin requerir un procesamiento de resuspensión, esto es, sin requerir agitación o ser agitados de otra manera para mantener a las partículas de MAAC suspendidas sustancialmente uniformemente en la composición.

45 Las composiciones que tienen dicha suspensión sustancialmente uniforme de partículas de MAAC, de manera que son capaces de proporcionar una dosis consistente y exacta después de administración en un ojo, proporcionan ventajas sustanciales respecto a la técnica anterior. En particular, las presentes composiciones pueden fabricarse, transportarse y almacenarse durante periodos de tiempo sustanciales sin que las partículas de MAAC precipiten del resto de la composición. El tener a las partículas de MAAC mantenidas suspendidas sustancialmente uniformemente en la composición permite que la composición proporcione una consistencia en la dosificación a largo plazo y una exactitud por cantidad de dosis unitaria administrada, sin ninguna necesidad de resuspender las partículas de MAAC.

50 El componente vehículo acuoso es ventajosamente oftálmicamente aceptable y puede incluir uno o más excipientes convencionales útiles en composiciones oftálmicas. En una realización preferida y ventajosa, las presentes composiciones no incluyen componente conservante añadido. Esta característica reduce o minimiza o incluso elimina sustancialmente las reacciones adversas, tales como citotoxicidad, en el ojo que pueden estar causadas por o estar asociadas con la presencia de un componente conservante, particularmente conservantes convencionales tales como  
55 cloruro de benzalconio (conocido como BAC o BAK) y conservantes de amonio cuaternario. En otras realizaciones, sin

embargo, el componente vehículo puede incluir, si se desea, una cantidad eficaz de al menos uno de un componente conservante, un componente de tonicidad y/o un componente tampón.

Los usos de dichas composiciones para tratar los segmentos posteriores de los ojos de seres humanos o animales también se describen y están incluidos en el alcance de la presente invención. En general, dichos usos comprenden administrar, por ejemplo, inyectar una composición que contiene MAAC, por ejemplo, una composición según la presente invención, a un segmento posterior de un ojo de un ser humano o animal, tal como en el humor vítreo de dicho ojo. Dicha etapa de administración es eficaz para proporcionar un efecto terapéutico deseado a los tejidos del segmento posterior. La etapa de administración comprende preferiblemente al menos uno de inyección o colocación intravítrea, inyección o colocación subconjuntival, inyección o colocación subtenon, inyección o colocación retrobulbar, inyección o colocación supracoroidal y semejantes.

La presente invención engloba una composición farmacéutica para tratar una afección ocular posterior, término que se define más adelante. La composición comprende un MAAC; un componente inductor de la viscosidad (que es ácido hialurónico que tiene un peso molecular medio de 1,3 millones a 2 millones de Daltons) en una cantidad eficaz para incrementar la viscosidad de la composición, y; un componente vehículo acuoso. La composición puede tener una viscosidad de al menos 10 mPa.s (cps) a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo y es inyectable en el vítreo de un ojo humano, por ejemplo, mediante una aguja de calibre 27. Mediante la reducción de la viscosidad de nuestra formulación, ésta puede inyectarse en el vítreo mediante una aguja de calibre 28, 29 ó 30.

El MAAC de las presentes composiciones farmacéuticas comprende al menos una molécula macromolecular que es bien soluble o está suspendida sustancialmente uniformemente en la composición y el componente inductor de la viscosidad es un hialuronato polimérico.

Una realización detallada en el alcance de nuestra invención es una composición farmacéutica para tratar una afección ocular posterior, que comprende un MAAC; hialuronato polimérico, en el que el MAAC está presente; cloruro de sodio; fosfato de sodio y agua. La composición farmacéutica puede tener una viscosidad a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo de entre 80.000 mPa.s (cps) a 300.000 mPa.s (cps), preferiblemente de 100.000 mPa.s (cps) a 300.000 mPa.s (cps) y lo más preferiblemente de 180.000 mPa.s (cps) a 225.000 mPa.s (cps). Obsérvese que la composición farmacéutica puede tener una viscosidad a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo de entre 80.000 mPa.s (cps) y 300.000 mPa.s (cps) y que cuando la composición farmacéutica tiene una viscosidad a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo de entre 100.000 mPa.s (cps) y 150.000 mPa.s (cps) puede inyectarse en el vítreo mediante una aguja de calibre 27, 28, 29 ó 30. Incluso con 300.000 mPa.s (cps) se cree que las presentes formulaciones pueden inyectarse mediante una aguja de calibre 30 debido a fluidificación por cizalla una vez que la formulación está en movimiento en la jeringa. El fosfato de sodio presente en la composición farmacéutica puede comprender tanto fosfato de sodio monobásico como fosfato de sodio dibásico. Además, la composición farmacéutica puede comprender una dosis eficaz de un MAAC, entre 2% p/v de hialuronato y 3% p/v de hialuronato, 0,6% p/v de cloruro de sodio y entre 0,03% p/v de fosfato de sodio y 0,04% p/v de fosfato de sodio. Alternativamente, la composición farmacéutica de la reivindicación 5 puede comprender entre 0,5% p/v de hialuronato y 6% p/v de hialuronato. Si se desea, el hialuronato puede calentarse (véase el Ejemplo 15) para disminuir su peso molecular (y por lo tanto su viscosidad) en la formulación.

La composición farmacéutica también puede comprender entre 0,6% p/v de cloruro de sodio a 0,9% p/v de cloruro de sodio. Generalmente, se usa más cloruro de sodio en la formulación cuanto menos fosfato se usa en la formulación, por ejemplo puede usarse 0,9% de cloruro de sodio si no hay fosfato presente en la formulación, ya que de esta manera la tonicidad de la formulación puede ajustarse para obtener la isotonicidad deseada con el fluido fisiológico. La composición farmacéutica puede comprender entre 0,0% p/v de fosfato de sodio y 0,1% p/v de fosfato de sodio. Como se ha indicado, puede usarse más fosfato en la formulación si hay menos cloruro de sodio presente en la formulación para obtener un efecto tamponador de pH 7,4 deseado.

Aunque las disoluciones de hialuronato que contienen esteroides insolubles en agua (o poco solubles) u otros compuestos se han propuesto para la inyección intravítrea (y en particular para una administración controlada debido a la naturaleza en partículas de los esteroides), no está nada claro que las disoluciones de hialuronato administradas intravítreamente sean útiles para los MAAC en general o específicamente para ningún agente MAAC particular. Esto es debido en parte al volumen de inyección máximo limitado (100 µl) posible para la inyección intravítrea (que limita la dosificación máxima posible), a las diferentes solubilidades, químicas y actividades específicas de los diferentes MAAC. Así, por ejemplo, no es obvio que 1) cualquier MAAC particular (incluyendo péptidos y/o ácidos nucleicos MAAC (incluyendo aptámeros) vaya a ser soluble en HA, 2) para MAAC solubles en agua, las ventajas de HA como vehículo vayan a concernir a una molécula soluble, 3) cualquier MAAC particular vaya a ser insoluble en HA en la magnitud que sea capaz de formularse en forma granulada o en partículas con la actividad específica requerida para hacer que una formulación MAAC-HA médicamente ventajosa, 4) los péptidos o aptámeros MAAC puedan formularse ventajosamente en HA, y 5) respecto a los compuestos MAAC específicos, las formulaciones HA combinadas con estos compuestos

particulares vayan a ser terapéuticamente eficaces, teniendo una actividad específica lo suficientemente alta para administración intravítrea.

Una realización más detallada en el alcance de nuestra invención es una composición farmacéutica para tratar una afección ocular posterior, consistiendo la composición farmacéutica esencialmente en un MAAC, hialuronato polimérico, siendo el MAAC soluble en dicho hialuronato polimérico, cloruro de sodio, fosfato de sodio y agua. La composición farmacéutica puede tener una viscosidad a una velocidad de cizalla 0,1/segundo de entre 128.000 mPa.s (cps) y 225.000 mPa.s (cps) y el fosfato de sodio presente en la composición farmacéutica puede estar presente tanto como fosfato de sodio monobásico como fosfato de sodio dibásico.

Una realización adicional de nuestra invención es una formulación de MAAC para tratar una afección ocular posterior, que consiste en un MAAC, hialuronato polimérico, cloruro de sodio, fosfato de sodio dibásico heptahidrato, fosfato de sodio monobásico monohidrato, y agua, en la que la composición tiene una viscosidad a una velocidad de cizalla 0,1/segundo de entre 128.000 mPa.s (cps) y 225.000 mPa.s (cps).

La invención también incluye el uso de la composición farmacéutica de la reivindicación 1 para tratar una afección ocular posterior por administración (como por inyección) de la composición farmacéutica de la reivindicación 1 al vítreo de un ser humano o animal, tratando de esta manera la afección ocular posterior. Así, hemos inventado una composición farmacéutica para tratar edema macular, degeneración macular, retinopatía diabética y otras enfermedades intraoculares mediante la administración al vítreo de un ojo humano de la composición farmacéutica que comprende un MAAC y un hialuronato, en la que la composición farmacéutica tiene una viscosidad a una velocidad de cizalla 0,1/segundo de entre 128.000 mPa.s (cps) y 225.000 mPa.s (cps).

Una composición farmacéutica en el alcance de nuestra invención para tratar una afección ocular posterior comprende un MAAC presente en una cantidad terapéuticamente eficaz como varias partículas, un componente inductor de la viscosidad en una cantidad eficaz para incrementar la viscosidad de la composición y un componente vehículo acuoso, en la que la composición tiene una viscosidad de al menos 10 mPa.s (cps) a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo y es inyectable en el vítreo de un ojo humano y en la que la composición farmacéutica libera el MAAC lentamente durante un periodo de hasta al menos 45 días después de la inyección intravítrea. Esta composición farmacéutica puede presentar una generación reducida de inflamación intraocular, sin efecto pluma (estos es sin dispersión amplia del MAAC en el vítreo inmediatamente cuando el MAAC se inyecta intravítreamente) y cohesividad (observada por la retención de la forma del gel de MAAC durante 30 semanas o más después de la inyección intravítrea de la formulación de MAAC en gel) después de la inyección intravítrea de la composición farmacéutica.

La invención también incluye, cuando el MAAC no es completamente soluble en el vehículo acuoso, un proceso para preparar una composición farmacéutica por (a) mezclado de las partículas del MAAC con cristales de cloruro de sodio, y 35% a 40% del volumen total del agua (agua para inyección) usado para preparar la formulación; (b) calentamiento de la mezcla de MAAC y cloruro de sodio hasta una temperatura entre 20<sup>o</sup>C y 35<sup>d</sup>C, preparando de esta manera una primera parte; (c) mezclado de fosfato de sodio y agua, preparando de esta manera una segunda parte; (d) disolución del hialuronato de sodio con un peso molecular entre 1,3 millones de Daltons y 2,0 millones de Daltons en otro 35% a 40% del volumen total de agua usado para preparar la formulación, seguido de esterilización por filtración después de la disolución; (e) liofilización del hialuronato de sodio disuelto; (f) reconstitución del hialuronato de sodio liofilizado, estéril, preparando de esta manera una tercera parte; y (g) combinación asepticamente de la primera, segunda y tercera partes, preparando de esta manera una composición farmacéutica de MAAC estéril, uniforme que es una suspensión en gel blanca opaca adecuada para inyección intravítrea para tratar una afección ocular. El agua se añade según se necesite (c.s.) para preparar la suspensión en gel deseada que es 80% a 90% en peso agua.

#### DESCRIPCIÓN BREVE DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 es un gráfico que alinea y compara las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de bevacizumab y que muestra varias secuencias de aminoácidos similares en dicha región variable, incluyendo las regiones variables (cadena pesada) de un anticuerpo IgG1 anticuerpo monoclonal murino anti VEGF (SEQ ID NO: 16), b) un fragmento F(ab) humanizado que tiene una unión a VEGF optimizada (SEQ ID NO: 17) y c) el marco consenso humano (SEQ ID NO: 18) así como las regiones variables (cadena ligera) de d) un anticuerpo IgG1 monoclonal murino anti VEGF (SEQ ID NO: 19), e) un fragmento F(ab) humanizado que tiene unión a VEGF optimizada (SEQ ID NO: 20) y f) el marco consenso humano (SEQ ID NO: 21).

#### DESCRIPCIÓN

La presente invención se basa en nuestro descubrimiento de formulaciones que contienen MAAC diseñadas específicamente para inyección o administración intraocular, intravítrea para tratar varias afecciones oculares, tales como edema macular. Nuestras formulaciones de MAAC tienen numerosas características y ventajas superiores, incluyendo las siguientes: (1) nuestras formulaciones pueden prepararse de manera que no contengan conservantes y

medios de resuspensión, tales como alcohol bencílico y/o un polisorbato; (2) simultáneamente, nuestras formulaciones tienen una toxicidad retiniana y de fotorreceptor muy reducida; (3) además de ser estériles y opcionalmente sin conservantes, nuestras formulaciones de MAAC pueden proporcionar efectos terapéuticos prolongados debido a la viscosidad de la formulación y la difusión relativamente lenta del MAAC de ésta y cuando se formula como una suspensión de partículas, puede proporcionar una liberación sostenida de cantidades terapéuticas del MAAC durante, por ejemplo, un periodo de meses después de la inyección intravítrea de dichas formulaciones. Así, nuestras formulaciones viscosas de MAAC pueden caracterizarse como implantes de liberación sostenida; (4) la administración intravítrea de nuestras formulaciones de MAAC no está sustancialmente asociada con una incidencia incrementada de eventos adversos tales como presión intraocular sustancialmente elevada, glaucoma, cataratas y/una inflamación intraocular; (5) la administración intravítrea de nuestras formulaciones de MAAC no está asociada con una incidencia incrementada de eventos adversos tales como presión intraocular elevada, glaucoma, cataratas y/una inflamación intraocular comparada con las formulaciones de MAAC intraoculares usadas o conocidas actualmente (por ejemplo, intravítreas); (6) en determinadas realizaciones, nuestras formulaciones permiten que las partículas o cristales de MAAC se liberen lentamente (al solubilizarse en el fluido viscoso de la cámara posterior) a partir de una localización unitaria relativamente discreta, evitando así el efecto pluma (dispersión rápida) característico de las formulaciones acuosas menos viscosas después de la administración intravítrea; (7) eliminación de la formación de pluma o dispersión rápida después de la administración intravítrea, lo que reduce beneficiosamente el oscurecimiento del campo visual.

La ventaja (3) anterior puede proporcionarse por las características particulares de nuestras formulaciones, tales como suspensión del MAAC en uno o más polímeros de alto peso molecular particulares lo que permite la liberación sostenida del MAAC por la formación de asociación de ésta por emparejamiento de iones o fase reversa. Así, el MAAC se libera lentamente de su asociación con el gel.

Generalmente, la presente invención proporciona composiciones útiles para la colocación, preferiblemente por inyección, en un segmento posterior de un ojo de un ser humano o animal. Dichas composiciones en la parte posterior, por ejemplo vítreo, del ojo son terapéuticamente eficaces frente a una o más afecciones y/o enfermedades de la parte posterior del ojo, y/o uno o más síntomas de dichas afecciones y/o enfermedades de la parte posterior del ojo.

Es importante indicar que aunque preferiblemente las composiciones descritas en la presente memoria se administran preferiblemente por inyección intravítrea para tratar una afección ocular posterior, nuestras composiciones también pueden administrarse (como por inyección) por otras vías, tales como por ejemplo subconjuntival, subtenon, periocular, retrobulbar, supracoroidal y/o intraescleral para tratar eficazmente una afección ocular. Además, puede ponerse un domo suturado o recargable sobre el sitio de la administración para evitar o reducir la eliminación por lavado, trasvase y/o difusión del agente activo en una dirección no preferida.

Las composiciones en el alcance de nuestra invención comprenden un MAAC; un componente inductor de la viscosidad; y opcionalmente un componente vehículo acuoso. Las composiciones son ventajosamente oftálmicamente aceptables. Una de las ventajas importantes de las presentes composiciones es que son más compatibles con o menos irritantes o tóxicas para los tejidos en el segmento posterior del ojo, por ejemplo, la retina del ojo, respecto a las composiciones terapéuticas propuestas previamente para inyección intravítrea en un segmento posterior de un ojo, por ejemplo, una composición comercializada con la marca registrada KENALOG<sup>®</sup>-40, que comprende el esteroide triamcinolona. En particular, en determinadas realizaciones las presentes composiciones ventajosamente no contienen componentes conservantes añadidos o incluyen componentes conservantes eficaces que son más compatibles con o menos irritantes o tóxicos para el segmento posterior, por ejemplo, retina del ojo respecto al alcohol bencílico, que está incluido en la composición KENALOG<sup>®</sup>-40 como conservante.

Como se ha indicado anteriormente, las presentes composiciones incluyen un MAAC. Dicho MAAC está presente en las composiciones en una cantidad terapéuticamente eficaz que es en una cantidad eficaz para proporcionar un efecto terapéutico deseado en el ojo en el que se pone la composición. El MAAC es bien soluble en la formulación acuosa o en determinadas realizaciones está presente en la composición en varias partículas. Cualquier MAAC adecuado seleccionado de siARN Z, pegaptanib, rambizumab y bevacizumab puede emplearse según la presente invención, siempre que sea al menos suficientemente soluble en el humor vítreo para ser capaz de administrar una dosis terapéuticamente eficaz en el tejido ocular.

En aquellas realizaciones en las que el MAAC no es completamente soluble en la formulación (y está presente como una suspensión de partículas), determinados parámetros se observan útilmente. El MAAC de estas realizaciones tiene ventajosamente una solubilidad limitada en agua, por ejemplo, a 25<sup>0</sup>C. Por ejemplo, el MAAC tiene preferiblemente una solubilidad en agua a 25<sup>0</sup>C de menos de 10 mg/ml. Por supuesto, el MAAC debe ser oftálmicamente aceptable, esto es, debe carecer sustancialmente de efectos perjudiciales significativos o no deseados en las estructuras o tejidos del ojo; por supuesto, esto dependerá del régimen de dosificación y del periodo de tiempo de la exposición continua de los tejidos del segmento posterior. Una característica particularmente útil de los MAAC útiles ahora es la capacidad de dicho componente de reducir el grado de angiogénesis, particularmente angiogénesis asociada con VEGF, en el segmento

posterior del ojo en el que se pone la composición causada por el resultado de una o más enfermedades y/o afecciones en el segmento posterior del ojo.

5 El MAAC está presente ventajosamente en una cantidad de al menos 10 mg por ml de la composición. Dependiendo de la solubilidad del MAAC, el MAAC puede estar presente en las presentes composiciones en una cantidad en el intervalo de 1% o menos a 5% ó 10% ó 20% ó 30% o más (p/v) de la composición, ó 0,2 mg por 100 µl, ó 0,4 mg por 100 µl, ó 0,5 mg por 100 µl, ó 1,0 mg por 100 µl, ó 2,0 mg por 100 µl, ó 4,0 mg por 100 µl, ó 5,0 mg por 100 µl, ó 6,0 mg por 100 µl, ó 7,0 mg por 100 µl, ó 8,0 mg por 100 µl, ó 10 mg por 100 µl, ó 20 mg por 100 µl, ó 40 mg por 100 µl, ó 60 mg por 100 µl, ó 80 mg por 100 µl. El proporcionar concentraciones o cantidades relativamente altas del MAAC en las presentes composiciones es beneficioso ya que pueden requerirse volúmenes y frecuencia de dosificaciones reducidos de la composición que se va a poner o inyectar en el segmento posterior del ojo con el fin de proporcionar la misma cantidad o más de MAAC en el segmento posterior del ojo respecto a composiciones que incluyen menos de 4% (p/v) del MAAC. Así, en una realización muy útil, las presentes composiciones incluyen más de 4% (p/v), por ejemplo al menos 5% (p/v) a 10% (p/v) ó 20% (p/v) ó 30% (p/v) del MAAC. La inyección de 100 µl o más de un fluido en el vítreo puede resultar en un exceso de fluido en el vítreo lo que podría producir potencialmente una presión intraocular elevada y trasvase del fluido desde el vítreo.

10 El componente inductor de la viscosidad está presente en una cantidad eficaz para incrementar, ventajosamente para incrementar sustancialmente, la viscosidad de la composición. Sin pretender limitar la invención a ninguna teoría particular de operación, se cree que mediante el incremento de la viscosidad de las composiciones hasta valores muy por encima de la viscosidad del agua, por ejemplo, al menos 100 mPa.s (cps) a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo, se obtienen composiciones que son altamente eficaces para la colocación, por ejemplo, inyección en el segmento posterior de un ojo de un ser humano o un animal. Junto con la colocación o inyectabilidad ventajosa de las presentes composiciones en el segmento posterior, se cree que la viscosidad relativamente alta de las presentes composiciones incrementa la capacidad de las presentes composiciones para mantener el MAAC localizado durante un periodo de tiempo en el segmento posterior después de la inyección o colocación intravítrea. En el caso en el que la composición comprenda partículas o cristales del MAAC, la viscosidad de la composición mantiene las partículas en suspensión sustancialmente uniforme durante periodos prolongados de tiempo, por ejemplo, durante tanto como 1 a 2 años, sin requerir procesamiento por resuspensión e incrementando de esta manera la vida a temperatura ambiente eficaz de la composición. La viscosidad relativamente alta de las presentes composiciones también puede tener un beneficio adicional de al menos ayudar a las composiciones a tener la capacidad de tener una cantidad o concentración incrementada del MAAC, como se discute en otro lugar en la presente memoria.

25 Ventajosamente, las presentes composiciones tienen viscosidades de al menos 10 mPa.s (cps) o al menos 100 mPa.s (cps) o al menos 1.000 mPa.s (cps), más preferiblemente al menos 10.000 mPa.s (cps) y aún más preferiblemente al menos 70.000 mPa.s (cps) o más, por ejemplo, hasta 200.000 mPa.s (cps) ó 250.000 mPa.s (cps) o 300.000 mPa.s (cps) o más, a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo. Las presentes composiciones no sólo tienen la viscosidad relativamente alta como se ha indicado anteriormente sino que también tienen la capacidad o están estructuradas o formadas para ser colocadas eficazmente, por ejemplo, por inyección, en un segmento posterior de un ojo de un ser humano o un animal, preferiblemente mediante una aguja de calibre 27, o incluso mediante una aguja de calibre 30.

30 Los componentes inductores de la viscosidad ahora útiles son preferiblemente componentes de fluidificación por cizalla ya que como la presente composición que contiene dicho componente inductor de la viscosidad de fluidificación por cizalla se pasa o inyecta en el segmento posterior de un ojo, por ejemplo, a través de un espacio estrecho, tal como una aguja de calibre 27, bajo condiciones de alta cizalla la viscosidad de la composición se reduce sustancialmente durante dicho paso. Después de dicho paso, la composición vuelve a adquirir sustancialmente su viscosidad anterior a la inyección.

35 Cualquier componente inductor de a viscosidad adecuado, por ejemplo, componente inductor de la viscosidad oftálmicamente aceptable, puede emplearse según la presente invención. Se han propuesto y/o usado muchos componentes inductores de la viscosidad en composiciones oftálmicas usadas sobre o en el ojo. El componente inductor de la viscosidad está presente en una cantidad eficaz para proporcionar la viscosidad deseada a la composición. Ventajosamente, (y dependiendo de sus propiedades y peso molecular medio) el componente inductor de la viscosidad está presente en una cantidad en un intervalo de 0,5% ó 1,0% a 5% ó 10% ó 20% (p/v) de la composición. La cantidad específica del componente inductor de la viscosidad empleada depende de varios factores incluyendo, por ejemplo y sin limitación, el componente inductor de la viscosidad específico que se emplea, el peso molecular del componente inductor de la viscosidad que se emplea, la viscosidad deseada para la presente composición que se está produciendo y/o usando y factores semejantes, tales como fluidificación por cizalla, biocompatibilidad y posible biodegradabilidad de las composiciones.

40 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 procedimientos quirúrgicos oftálmicos.

5 Los ejemplos de componentes inductores de la viscosidad útiles incluyen, pero no están limitados a, ácido hialurónico (tal como ácido hialurónico polimérico), carbómeros, ácido poliacrílico, derivados celulósicos, policarbofil, polivinilpirrolidona, gelatina, dextrina, polisacáridos, poliacrilamida, alcohol polivinílico, acetato de polivinilo, derivados de éstos y mezclas y copolímeros de éstos. En una realización particularmente preferida, la composición comprende un componente ácido hialurónico, tal como un componente ácido hialurónico polimérico, incluyendo un ácido hialurónico polimérico entrecruzado.

10 Un peso molecular medio de los componentes inductores de la viscosidad ahora útiles puede estar en un intervalo de 1,3 millones de Daltons a 2 millones de Daltons. De nuevo, el peso molecular del componente inductor de la viscosidad útil según la presente invención, puede variar en un intervalo sustancial tomando como base el tipo de componente inductor de la viscosidad empleado y la viscosidad final deseada de la presente composición en cuestión, así como, posiblemente uno o más factores adicionales. En una realización, pueden usarse dos o más intervalos de peso molecular distintos del componente inductor de la viscosidad para incrementar las propiedades de fluidificación por cizalla de la composición.

15 En una realización muy útil, un componente inductor de la viscosidad es un componente hialuronato polimérico, por ejemplo, un componente hialuronato de metal, seleccionado preferiblemente de hialuronatos de metales alcalinos, hialuronatos de metales alcalinotérreos y mezclas de éstos, y aún más preferiblemente seleccionado de hialuronatos de sodio o potasio y mezclas de éstos. El peso molecular de dicho componente hialuronato (es decir, un ácido hialurónico polimérico) está preferiblemente en un intervalo de 1,3 millones de Daltons a 2 millones de Daltons. En una realización, las presentes composiciones incluyen un componente hialuronato polimérico en una cantidad en un intervalo 0,05% a 0,5% (p/v). En una realización útil adicional, el componente hialuronato está presente en una cantidad en un intervalo de 20 1% a 4% (p/v) de la composición. En este último caso, la viscosidad muy alta del polímero forma un gel que retrasa la sedimentación de las partículas y la difusión de los solutos disueltos después de la inyección en el ojo. Dicha composición puede comercializarse en jeringas precargadas ya que el gel no puede extraerse fácilmente con una aguja y una jeringa del contenedor que la contiene. Las jeringas precargadas tienen las ventajas de conveniencia para el inyector y la seguridad que resulta de menos manipulación y la posibilidad de error o contaminación.

25 El componente vehículo acuoso es ventajosamente oftálmicamente aceptable y puede incluir uno o más excipientes convencionales útiles en composiciones oftálmicas. Las presentes composiciones incluyen preferiblemente una cantidad importante de agua líquida. Las presentes composiciones pueden ser, y son preferiblemente, estériles, por ejemplo, antes de ser usadas en el ojo.

30 Las presentes composiciones incluyen preferiblemente al menos un componente tampón en una cantidad eficaz para controlar y/o mantener el pH de la composición y/o al menos un componente de tonicidad en una cantidad eficaz para controlar la tonicidad u osmolalidad de las composiciones; preferiblemente, la tonicidad y/o osmolalidad serán sustancialmente isotónicas respecto al humor vítreo. Más preferiblemente, las presentes composiciones incluyen tanto un componente tampón como un componente de tonicidad.

35 El componente tampón y el componente de tonicidad pueden elegirse de aquellos que son convencionales y muy conocidos en la técnica oftálmica. Los ejemplos de dichos componentes tampón incluyen, pero no están limitados a, tampones acetato, tampones citrato, tampones fosfato, tampones borato y semejantes y mezclas de éstos. Los tampones fosfato son particularmente útiles. Los componentes de tonicidad útiles incluyen, pero no están limitados a, sales, particularmente cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol y otros alcohol azúcares y otro componente de tonicidad adecuado oftálmicamente aceptable y mezclas de éstos.

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

45 Las presentes composiciones pueden incluir uno o más componentes adicionales en cantidades eficaces para proporcionar una o más propiedades útiles y/o beneficios a las presentes composiciones. Por ejemplo, aunque las presentes composiciones pueden carecer sustancialmente de componentes conservantes añadidos, en otras realizaciones, las presentes composiciones incluyen cantidades eficaces de componentes conservantes, preferiblemente componentes que son más compatibles con el tejido en el segmento posterior del ojo en el que se pone la composición que el alcohol bencilico. Los ejemplos de dichos componentes conservantes incluyen, sin limitación, cloruro de benzalconio, clorohexidina, PHMB (polihexametilen biguanida), metil y etil parabenos, hexetidina, componentes clorito, tal como dióxido de cloro, cloritos de metal y semejantes, otros conservantes oftálmicamente aceptables y semejantes y mezclas de éstos. La concentración del componente conservante, si lo hay, en las presentes composiciones es una concentración eficaz para conservar la composición y está habitualmente en un intervalo de 0,0001% a 0,05% ó 0,1% 50 (p/v) de la composición.

55

- Además, si el MAAC está en suspensión en la composición, la presente composición puede incluir una cantidad eficaz de componente de resuspensión eficaz para facilitar la suspensión o resuspensión de las partículas de MAAC en las presentes composiciones. Como se ha indicado anteriormente, en determinadas realizaciones, las presentes composiciones carecen de componentes de resuspensión añadidos. En otras realizaciones de las presentes composiciones se emplean cantidades eficaces de componentes de resuspensión, por ejemplo, para proporcionar un grado añadido de seguridad de que las partículas de MAAC permanecen en suspensión, como se desea y/o pueden resuspenderse relativamente fácilmente en las presentes composiciones, si se desea dicha resuspensión. Ventajosamente, el componente de resuspensión empleado según la presente invención, si lo hay, se elige para ser más compatible con el tejido en el segmento posterior del ojo en el que se pone la composición que el polisorbato 80.
- 5
- 10 Cualquier componente de resuspensión adecuado puede emplearse según la presente invención. Los ejemplos de dichos componentes de resuspensión incluyen, sin limitación, tensioactivos tales como poloxanos, por ejemplo, comercializados con la marca registrada PLURONIC<sup>®</sup>; tiloxapol; sarcosinatos; aceites de ricino polietoxilados, otros tensioactivos y semejantes y mezclas de éstos.
- 15 Una clase de componentes de resuspensión muy útil son aquellos seleccionados de los derivados de vitaminas. Aunque dichos materiales se han sugerido previamente para uso como tensioactivos en composiciones oftálmicas, se ha encontrado que son eficaces en las presentes composiciones como componentes de resuspensión. Los ejemplos de derivados de vitaminas útiles incluyen, sin limitación, succinatos de tocoferil polietilen glicol Vitamina E, tales como succinato de tocoferil polietilen glicol 1000 Vitamina E (Vitamina E TPGS). Otros derivados de vitaminas útiles incluyen, de nuevo sin limitación, succinamidas de tocoferil polietilen glicol Vitamina E, tal como succinamida de tocoferil polietilen glicol 1000 Vitamina E (Vitamina E TPGSA) en el que el enlace éster entre el polietilen glicol y el ácido succínico se reemplaza por un grupo amida.
- 20
- 25 Los componentes de resuspensión útiles ahora están presentes, si los hay, en las composiciones según la presente invención en una cantidad eficaz para facilitar la suspensión de las partículas en las presentes composiciones, por ejemplo, durante la fabricación de las composiciones o posteriormente a ésta. La cantidad específica del componente de resuspensión empleada puede variar en un intervalo amplio dependiendo, por ejemplo, del componente de resuspensión específico que se emplea, la composición específica en la que el componente de resuspensión se está empleando y factores semejantes. Las concentraciones adecuadas del componente de resuspensión, si lo hay, en las presentes composiciones están habitualmente en un intervalo de 0,01% a 5%, por ejemplo, 0,02% ó 0,05% a 1,0% (p/v) de la composición.
- 30
- 35 La solubilidad del MAAC es claramente importante para la eficacia de las presentes composiciones que contienen MAAC, como lo es la potencia y eficacia de los MAAC en sí mismos. Los MAAC muy solubles están disponibles más fácilmente e inmediatamente para los tejidos intraoculares, pero pueden requerir de acuerdo con esto dosis más pequeñas del MAAC (y una administración más frecuente) para evitar excederse sustancialmente de la dosis eficaz. La viscosidad de las presentes composiciones retrasará, en algún grado, la difusión incluso de estos MAAC muy solubles, pero no proporcionará tan eficazmente un periodo prolongado de administración y eficacia resultante como es cierto, por ejemplo, cuando el MAAC es secuestrado o algo insoluble (y así solubilizado durante un periodo de tiempo *in situ*) en la composición de MAAC de la presente invención. La disponibilidad de los MAAC mínimamente solubles para los tejidos intraoculares puede limitarse por la velocidad de disolución de estas sustancias. Como con los MAAC fácilmente solubles, el retraso de la disolución es tanto bueno como malo para el paciente. Por una parte, después de una única inyección intravítrea de la presente composición, la vida media de eliminación para el MAAC es ventajosamente bastante larga. Por otra parte, los niveles de fármaco terapéutico en el compartimento vítreo del ojo pueden no conseguirse durante algún tiempo (por ejemplo, 1 a 3 días), debido a la velocidad lenta de disolución de las partículas de MAAC.
- 40
- 45 En una realización de la presente invención, por ejemplo, si un MAAC no es muy soluble y particularmente si el MAAC no es muy soluble y tiene una potencia y/o eficacia relativamente alta, se proporciona una cantidad eficaz de un componente de solubilización en la composición para solubilizar una cantidad pequeña, que es menor del 50%, por ejemplo en un intervalo de 1% ó 5% a 10% ó 20% del MAAC. Por ejemplo, la inclusión de un componente ciclodextrina, tal como  $\beta$ -ciclodextrina, sulfo-butiléter  $\beta$ -ciclodextrina (SBE), otras ciclodextrinas y semejantes y mezclas de éstas, a 0,5 a 5,0% (p/v) puede solubilizar 1 a 10% de la dosis inicial del MAAC. Esta fracción presolubilizada proporciona una dosis de carga fácilmente biodisponible, evitando o minimizando de esta manera el tiempo de retraso para conseguir eficacia terapéutica.
- 50
- El uso de dicho componente de solubilización es ventajoso para proporcionar cualquier liberación relativamente "de choque" rápida de un MAAC de otra manera muy insoluble en el ojo para eficacia terapéutica. Dicho componente de solubilización, por supuesto, debe ser oftálmicamente aceptable o al menos suficientemente compatible con el segmento posterior del ojo en el que la composición se pone para evitar daños excesivos al tejido en dicho segmento posterior.



La farmacocinética del MAAC después de la administración intravítrea puede implicar tanto la velocidad de la disolución del fármaco como la velocidad del flujo de salida del fármaco a través de la vía anterior. Los pacientes requieren típicamente dosificaciones repetidas, por ejemplo aproximadamente cada dos o tres meses, o de otra manera según sea necesario.

5 En una realización de la presente invención, las composiciones contienen además componentes de liberación sostenida, por ejemplo, polímeros (en la forma por ejemplo de geles y microsferas), tales como poli (D,L-láctido) o poli (D,L-láctido co-glicólido) en cantidades eficaces para reducir las velocidades de difusión local y/o las velocidades de disolución de las partículas de MAAC. El resultado es un perfil de velocidad de eliminación plano con una  $C_{max}$  menor y una ventana terapéutica más prolongada, extendiendo de esta manera el tiempo entre las inyecciones requeridas por muchos  
10 pacientes.

Puede emplearse cualquier componente de liberación adecuado, preferiblemente condicionalmente aceptable. Los ejemplos útiles se han mostrado anteriormente. El componente de liberación sostenida es preferiblemente biodegradable o bioabsorbible en el ojo de manera que no permanece ningún residuo a largo plazo. La cantidad del componente de liberación retardada incluido puede variar en un intervalo relativamente amplio dependiendo, por ejemplo, del  
15 componente de liberación sostenida específico que se está empleando, el perfil de liberación específico deseado y factores semejantes. Las cantidades típicas de componentes de liberación retardada, si los hay, incluidos en las presentes composiciones están en un intervalo de 0,05 a 0,1 a 0,5 ó 1 o más por ciento (p/v) (peso del ingrediente en el volumen total de la composición) de la composición.

Las presentes composiciones pueden prepararse usando técnicas adecuadas de mezclado/procesamiento o técnicas, por ejemplo, una o más de las técnicas de mezclado convencionales. El procesamiento de la preparación debe elegirse para proporcionar las presentes composiciones en formas que son útiles para la colocación o inyección en los segmentos posteriores de los ojos de seres humanos o animales. El MAAC soluble puede mezclarse simplemente con una disolución de ácido hialurónico. En una realización útil utilizando un MAAC algo insoluble, se hace una dispersión de MAAC combinando el MAAC con agua, y el excipiente (distinto del componente inductor de la viscosidad) que se va a  
20 incluir en la composición final. Los ingredientes se mezclan para dispersar el MAAC y se autoclavan. Alternativamente, las partículas de MAAC pueden irradiarse con rayos  $\gamma$  antes de la adición al vehículo estéril. El componente inductor de la viscosidad puede adquirirse estéril o esterilizarse por procesamiento convencional, por ejemplo, filtrando una disolución diluida seguido de liofilización para rendir un polvo estéril. El componente inductor de la viscosidad estéril se combina con agua para preparar un concentrado acuoso. Bajo condiciones asépticas, la dispersión de MAAC concentrada puede combinarse o mezclarse y añadirse o combinarse como una suspensión de sólidos al concentrado del 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.  
25

Se proporciona el uso de la presente composición y está incluido en el alcance de la presente invención. En general, dichos usos comprenden administrar una composición según la presente invención a un segmento posterior de un ojo de un ser humano o animal, obteniendo de esta manera un efecto terapéutico deseado, tal como tratamiento de una afección dada del segmento anterior o posterior del ojo. La etapa de administración comprende ventajosamente al menos una de inyección intravítrea, inyección subconjuntival, inyección subtenon, inyección retrobulbar, inyección supracoroidal y semejantes. Un aparato de jeringa incluyendo una aguja con un tamaño apropiado, por ejemplo, una aguja de calibre 27 o una aguja de calibre 30, puede usarse eficazmente para inyectar la composición en el segmento  
30 posterior de un ojo de un ser humano o animal.  
35

Las afecciones oculares que pueden tratarse o afrontar según la presente invención incluyen, sin limitación, las siguientes:

Maculopatías/degeneración retiniana: degeneración macular, incluyendo degeneración macular relacionada con la edad (ARMD), tal como degeneración macular no exudativa relacionada con la edad y degeneración macular exudativa  
40 relacionada con la edad, neovascularización coroidal, retinopatía, incluyendo retinopatía diabética, neuroretinopatía macular aguda y crónica, corioretinopatía serosa central, y edema macular, incluyendo edema macular cistoide, y edema macular diabético. Uveítis/retinitis/coroiditis: epitelopatía pigmentaria plaicoide multifocal aguda, enfermedad de Behcet, retinocoroidopatía en perdigonada, uveítis infecciosa (sífilis, lyme, tuberculosis, toxoplasmosis), incluyendo uveítis intermedia (pars planitis) y uveítis anterior, coroiditis multifocal, síndrome de mancha blanca evanescente múltiple (MEWDS), sarcoidosis ocular, escleritis posterior, coroiditis serpigínosa, fibrosis subretiniana, síndrome de uveítis y  
50 síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada. Enfermedades vasculares/enfermedades exudativas: enfermedad oclusiva arterial retiniana, oclusión de la vena retiniana central, coagulopatía intravascular diseminada, oclusión de la rama venosa retiniana, cambios del fondo hipertensores, síndrome isquémico ocular, microaneurismas arteriales retinianos, enfermedad de Coat, telangiectasia parafoveal, oclusión de la vena hemi-retiniana, papiloflebitis, oclusión de la arteria  
55 retiniana central, oclusión de la rama arterial retiniana, enfermedad de la arteria carótida (CAD), angeítis de rama escarchada, retinopatía de células estrelladas y otras hemoglobinopatías, estrías angioides, vitreoretinopatía exudativa

familiar, enfermedad de Eales. Traumático/quirúrgico: oftalmia simpática, enfermedad retiniana uveítica, desprendimiento de retina, trauma, láser, PDT, fotocoagulación, hipoperfusión durante cirugía, retinopatía por radiación, retinopatía por trasplante de médula ósea. Trastornos proliferativos: retinopatía vítrea proliferativa y membranas epiretinianas, retinopatía diabética proliferativa. Trastornos infecciosos: histoplasmosis ocular, toxocariasis ocular, síndrome de presunta histoplasmosis ocular (POHS), endoftalmitis, toxoplasmosis, enfermedades retinianas asociadas con infección por VIH, enfermedad coroidal asociada con infección por VIH, enfermedad uveítica asociada con infección por VIH, retinitis viral, necrosis retiniana aguda, necrosis retiniana exterior progresiva, enfermedades retinianas fúngicas, sífilis ocular, tuberculosis ocular, neuroretinitis subaguda unilateral difusa y miasis. Trastornos genéticos: retinitis pigmentosa, trastornos sistémicos con distrofias retinianas asociadas, ceguera nocturna estacionaria congénita, distrofias del cono, enfermedad de Stargardt y flavimaculatus fundus, enfermedad de Bests, distrofia en patrón del epitelio del pigmento retiniano, retinosquiasis ligada a X, distrofia del fondo de Sorsby, maculopatía concéntrica benigna, distrofia cristalina de Bietti, pseudoxantoma elasticum. Desgarros/agujeros retinianos: desprendimiento de retina, agujero macular, desgarro retiniano gigante. Tumores: enfermedad retiniana asociada con tumores, hipertrofia congénita del RPE, melanoma uveal posterior, hemangioma coroidal, osteoma coroidal, metástasis coroidal, hamartoma combinado de la retina y el epitelio del pigmento retiniano, retinoblastoma, tumores vasoproliferativos del fondo ocular, astrocitoma retiniano, tumores linfoides intraoculares. Misceláneos: corioidopatía interior puntiforme, epitelopatía pigmentaria placoide multifocal posterior aguda, degeneración retiniana miópica, epitelitis del pigmento retiniano aguda y semejantes.

El componente terapéutico de los presentes sistemas de administración de fármaco comprende uno o más agentes terapéuticos macromoleculares. Así, el componente terapéutico se entiende que comprende un MAAC. Los ejemplos de agentes terapéuticos macromoleculares adecuados incluyen oligonucleótidos antisentido moléculas de ácido ribonucleico de interferencia pequeño (siARN) Z, pegaptanib, rambizumab y bevacizumab. Los presentes sistemas son eficaces para proporcionar una o unas dosificaciones terapéuticamente eficaces del agente o agentes directamente a una región del ojo para tratar, prevenir y/o reducir uno o más síntomas de una o más afecciones oculares no deseables. Así, con cada administración, los agentes terapéuticos estarán disponibles en el sitio en el que se necesitan y se mantendrán a concentraciones eficaces durante un periodo de tiempo prolongado, en lugar de someter al paciente a inyecciones más frecuentes o, en el caso de gotas auto-administradas, tratamiento ineficaz sólo con choques limitados de exposición al agente o agentes activos o, en el caso de administración sistémica, exposición sistémica mayor y efectos secundarios concomitantes o, en el caso de dosificaciones de liberación no sostenida, concentraciones tisulares transitorias altas potencialmente tóxicas asociadas con dosificación en pulsos, de liberación no sostenida.

En otra realización, la presente invención comprende un sistema de administración de fármaco intraocular que comprende un componente terapéutico que comprende un componente anti-angiogénico y un componente inductor de la viscosidad.

En otra realización específica, el componente terapéutico comprende una secuencia contigua de al menos 10, o al menos 15, o al menos 20 o al menos 25 o al menos 30, o al menos 40 o al menos 50 aminoácidos del fragmento Fab anti-VEGF humanizado recombinante rambizumab (LUCENTIS®). En otra realización específica, el componente terapéutico comprende una secuencia contigua de al menos 10, o al menos 15, o al menos 20 o al menos 25 o al menos 30, o al menos 40 o al menos 50 aminoácidos del anticuerpo sintético IgG1 anti-VEGF humanizado recombinante bevacizumab (AVASTIN®). En otra realización específica, el componente terapéutico comprende separadamente al menos 10, o al menos 15, o al menos 20 o al menos 25 o al menos 30, o al menos 40 o al menos 50 aminoácidos contiguos de la secuencia de aminoácidos de ramizumab y al menos 10, o al menos 15, o al menos 20 o al menos 25 o al menos 30, o al menos 40 o al menos 50 aminoácidos contiguos de bevacizumab.

En determinadas realizaciones, el componente terapéutico de las presentes formulaciones comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un ácido ribonucleico de interferencia corto o pequeño (siARN) o un aptámero oligonucleotídico. Por ejemplo, y en algunas realizaciones preferidas, el siARN tiene una secuencia de nucleótidos que es eficaz para inhibir la producción celular del factor decrecimiento del endotelio vascular (VEGF) o los receptores de VEGF.

El VEGF es un mitógeno de las células endoteliales (Connolly D.T., et al., Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. J. Clin. Invest. 84: 1470-1478 (1989)), que a través de la unión con su receptor, VEGFR, juega un papel importante en el crecimiento y mantenimiento de las células del endotelio vascular y en el desarrollo de vasos sanguíneos y linfáticos nuevos (Aiello L.P. et al., Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders, New Engl. J. Med. 331: 1480-1487 (1994)).

Actualmente, se cree que la familia del receptor de VEGF consiste en tres tipos de receptores, VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR/Flk-1) y VEGFR-3 (Flt-4), todos los cuales pertenecen a la superfamilia de receptores de tipo tirosina quinasa (Mustonen T. et al., Endothelial receptor tyrosine kinases involved in angiogenesis, J. Cell Biol. 129: 895-898 (1995)). Entre estos receptores, VEGFR-1 parece que es el que se une con más fuerza a VEGF, VEGFR-2 parece que se une más débilmente que VEGFR-1 y VEGFR-3 no muestra esencialmente unión, aunque se une a otros miembros de la

familia de VEGF. El dominio tirosina quinasa de VEGFR-1, aunque es mucho más débil que el de VEGFR-2, transduce señales para las células endoteliales. Así, VEGF es una sustancia que estimula el crecimiento de vasos sanguíneos nuevos. Se cree que el desarrollo de vasos sanguíneos nuevos, neovascularización o angiogénesis, en el ojo causa pérdida de visión en la degeneración macular húmeda y otras afecciones oculares, incluyendo el edema.

- 5 En una realización, las presentes composiciones pueden incluir moléculas de siARN Z activas y pueden liberar cantidades eficaces de moléculas de siARN Z activas que se asocian con un complejo de ribonucleasa (RISC) en las células diana para inhibir la producción de una proteína diana, tal como VEGF o los receptores de VEGF. Los siARN Z de los presentes sistemas pueden ser moléculas de ARN bicatenario o monocatenario y pueden tener una longitud de menos de aproximadamente 50 nucleótidos.
- 10 Algunos siARN Z que se usan en los presentes sistemas inhiben preferiblemente la producción de VEGF o de los receptores de VEGF comparado con otras proteínas celulares. En determinadas realizaciones, los siARN Z pueden inhibir la producción de VEGF o VEGFR al menos 50%, preferiblemente al menos 60%, y más preferiblemente 70% o más. Así, estos siARN Z tienen secuencias de nucleótidos que son eficaces para proporcionar estos intervalos deseados de inhibición.
- 15 En una realización particularmente preferida, la molécula de ARNi comprende un oligonucleótido siARN Z. En otra realización preferida, el siARN es capaz de silenciar la expresión del receptor VEGFR-2 en una célula diana. El siARN anti-VEGF-2 comprende, por ejemplo, las secuencias de nucleótidos siguientes y sus secuencias oligonucleotídicas complementarias, preferiblemente sus complementos exactos.

20 Los ejemplos de oligonucleótidos ARNi dirigidos frente al receptor de VEGF-2 incluyen siARN Z, un agente terapéutico siARN que tiene actividad silenciadora frente a VEGFR-1 y/o VEGFR-2, desarrollado por SIRNA Therapeutics, Inc.

iB C U G A G U U U A A A G G C A C C C T T iB

SEQ ID NO: 22

TsT G A C U C A A A U U U U C C G U G G G

SEQ ID NO: 23

- 25 en el que iB es una base invertida, y TsT es un segmento dinucleótido ditimidina unido por un enlace fosforotioato. Se cree que cada una de estas modificaciones añade resistencia a nucleasas de los oligonucleótidos. Ésta y otras moléculas de siARN relevantes se describen, por ejemplo, en la Publicación de Patente EEUU 2005/0233344.

30 Esencialmente, el siARN Z es un ARN de interferencia corto modificado (siARN) con una afinidad para el Receptor 1 del Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGFR-1). VEGFR-1 se ha localizado principalmente en las células del endotelio vascular y se estimula tanto por VEGF como por el factor de crecimiento de la placenta (PIGF), lo que resulta en el crecimiento de vasos sanguíneos nuevos. Tomando a VEGFR-1 como diana, el siARN Z puede regular a la baja potencialmente la activación de la angiogénesis ocular no deseable influida por VEGF y/o PIGF. Los métodos generales para preparar ARNi funcional, y los ejemplos de siARN específicos están incluidos, por ejemplo, en Kim et al., Am. J. Pathology 165:2177-2185 (2004); Tkaei et al., Cancer Res. 64:3365-3370 (15 de mayo, 2004); Huh et al., Oncogene 35 24:790-800 (27 de enero, 2005); WO 2003/070910; WO 2005/028649; WO 2005/044981; WO 2005/019453; WO 2005/0078097; WO 2003/070918; WO 2003/074654; WO 2001/75164; WO 2002/096927; Patente EEUU No. 6.506.559; y 6.469.158.

40 El estado de la técnica en el silenciamiento de genes mediante siARN ha progresado hasta el punto de que los algoritmos informáticos son capaces de analizar una secuencia dada de ARNm o ADNc y determinar las secuencias de nucleótidos eficaces de siARN para la construcción de oligonucleótidos basados en dicha secuencia.

La secuencia de nucleótidos de la isoforma humana de VEGF, VEGF 165, se identifica como SEQ ID NO: 11, a continuación. La secuencia de nucleótidos tiene un Número de Registro GenBank AB021221.

atgaactttctgctgtcttgggtgcattggagccttgccctgctgctctac  
ctccaccatgccaagtgggtcccaggctgcacccatggcagaaggaggaggcagaa  
tcatcacgaagtgggtgaagtccatggatgtctatcagcgcagctactgccatccaa  
tcgagaccctgggtggacatcttcaggagtaccctgatgagatcgagtacatcttc  
aagccatcctgtgtgcccctgatgcatgctgggggctgctgcaatgacgagggcct  
ggagtgtgtgcccactgaggagtccaacatcaccatgcagattatgcggatcaaac  
ctcaccaaggccagcacataggagagatgagcttcctacagcacaacaaatgtgaa  
tgagaccaaagaaagatagagcaagacaagaaaatccctgtgggccttgctcaga  
gaggagaaagcattttgtttgtacaagatccgcagacgtgtaaatgttcctgcaaaa  
acacagactcgcgttgcaaggcgaggcagcttgagttaaacgaacgtacttgagaa  
tgtgacaagccgagggcgggtga (SEQ ID NO:11)

La secuencia de nucleótidos de VEGFR2 se identifica como SEQ ID NO: 12, a continuación. La secuencia de nucleótidos tiene un Número de Registro GenBank AF063658.

atggagagcaaggtgctgctggccgtcgccctgtggctctgcgtggagacc  
cgggcccgcctctgtgggtttgcctagtgttctcttgatctgccaggctcagcat  
acaaaaagacatacttacaattaaggctaatacaactcttcaaattacttgaggg  
gacagagggacttgactggctttggcccaataatcagagtggcagtgagcaagg

gtggaggtgactgagtgacgagatggcctctctgtaagacactcacaattccaaa  
agtgatcggaaatgacactggagcctacaagtgcttctaccgggaaactgacttgg  
cctcgggtcatttatgtctatgttcaagattacagatctccatttattgcttctgtt  
agtgaccaacatggagtcgtgtacattactgagaacaaaaacaaaactgtggtgat  
tccatgtctcgggtccatttcaaatctcaacgtgtcactttgtgcaagataccag  
aaaagagatttgttcctgatggtaacagaatttctcgggacagcaagaagggttt  
actattcccagctacatgatcagctatgctggcatggtcttctgtgaagcaaaaat  
taatgatgaaagttaccagtctattatgtacatagttgtcgttgtagggtatagga  
tttatgatgtggttctgagtcctgtcatggaattgaactatctggtggagaaaag  
cttgtcttaattgtacagcaagaactgaactaaatgtggggattgacttcaactg  
ggaatacccttcttcgaagcatcagcataagaaaacttgtaaaccgagacctaaaaa  
cccagtctgggagtgagatgaagaaattttgagcaccttaactatagatggtgta  
accggagtgaccaaggattgtacacctgtgcagcatccagtgggctgatgaccaa  
gaagaacagcacatttgtcaggggtccatgaaaaaccttttgttgcttttggaagtg  
gcatggaatctctggtggaagccacggtgggggagcgtgtcagaatccctgcgaag  
taocttggttaccacccccagaaataaaatggtataaaaaatggaatacccttga  
gtccaatcacacaattaagcggggcatgtactgacgattatggaagtgagtgaaa  
gagacacaggaaattacactgtcatccttaccaatccatttcaaaggagaagcag  
agccatgtggtctctctggttgtgtatgtccccaccagattggtgagaaatctct  
aatctctcctgtggattcctaccagtacggcaccactcaaacgctgacatgtacgg  
tctatgccattcctccccgcacacatccactggtattggcagttggaggaagag  
tgcgccaacgagcccagccaagctgtctcagtgacaaaccatacccttgtgaaga  
atgggagaagtgtggaggacttccagggaggaaataaaattgaagttaataaaaatc  
aatttgctctaattgaaggaaaaaacaaaactgtaagtacccttgttatccaagcg  
gcaaatgtgtcagcttgtacaaatgtgaagcggtaacaaagtctgggagaggaga  
gaggtgatctccttccacgtgaccaggggtcctgaaattactttgcaacctgaca  
tgacagcccactgagcaggagagcgtgtcttgtggtgcaactgcagacagatctacg  
tttgagaacctcacatggtacaagcttggcccacagcctctgccaatccatgtggg  
agagttgccacacctgtttgcaagaacttgatactcttggaaattgaatgccaa  
ccatgttctctaatagcacaaatgacattttgatcatggagcttaagaatgcatcc  
ttgcaggaccaaggagactatgtctgccttgctcaagacaggaagaccaagaaaag  
acattgcgtggtcaggcagctcacagtcctagagcgtgtggcaccacgatcacag  
gaaacctggagaatcagacgacaagatttggggaaagcatcgaagtctcatgcacg  
gcatctgggaatccccctccacagatcatgtggtttaaagataatgagacccttgt

agaagactcaggcattgtattgaaggatgggaaccggaacctcactatccgcagag  
 tgaggaaggaggacgaaggcctctacacctgccaggcatgcagtgttcttggtgt  
 gcaaaagtggaggcatttttcataatagaagggtgccaggaaaagacgaacttgg  
 aatcattattctagtaggcacggcggtgattgccatgttcttctggctacttcttg  
 tcatcatcctacggaccgtaagcgggccaatggaggggaactgaagacaggctac  
 ttgtccatcgtcatggatccagatgaactcccatggatgaacattgtgaacgact  
 gccttatgatgccagcaaatgggaattccccagagaccggctgaagctaggttaagc  
 ctcttgccgtggtgcctttggccaagtgattgaagcagatgcctttggaattgac  
 aagacagcaacttgaggacagtagcagtcaaaatggtgaaagaaggagcaacaca  
 cagtgagcatcgagctctcatgtctgaactcaagatcctcattcatattggtcacc  
 atctcaatggtgcaaccttctaggtgcctgtaccaagccaggaggccactcatg  
 gtgattgtggaattctgcaaatttgaaacctgtccacttacctgaggagcaagag  
 aatgaatttgtccectacaagaccaaggggcacgattccgtcaagggaagact  
 acgttgagcaatccctgtggatctgaaacggcgcttgacagcatcaccagtagc  
 cagagctcagccagctctggatttgtggaggagaagtccctcagtgatgtagaaga  
 agaggaagctcctgaagatctgtataaggacttctgaccttgagcatctcatct  
 gttacagcttccaagtggctaagggcattggagtcttggcatcgcgaaagtgtatc  
 cacagggacctggcggcacgaaatatcctcttatcggagaagaacgtggttaaaat  
 ctgtgactttggcttgcccgggatatttataaagatccagattatgtcagaaaag  
 gagatgctcgcctccctttgaaatggatggccccagaaacaatttttgacagagtg  
 tacacaatccagagtgcgtctggtcttttgggtgttttgctgtgggaaatattttc  
 cttaggtgcttctccatctcctggggtaaagattgatgaagaattttgtaggcgat  
 tgaaagaaggaaactagaatgagggcccctgattatactacaccagaaatgtaccag  
 accatgctggactgctggcacggggagcccagtcagagaccacgttttcagagtt  
 ggtggaacatttgggaaatctctgcaagctaagctcagcaggatggcaagact  
 acattgttcttccgatatcagagactttgagcatggaagaggattctggactctct  
 ctgcctacctcacctgttctctgtatggaggaggaggaagtatgtgaccccaatt  
 ccattatgacaacacagcaggaatcagtcagtatctgcagaacagtaagcgaaaga  
 gccggcctgtgagtgtaaaaacatttgaagatatcccgttagaagaaccagaagta  
 aaagtaatcccagatgacaaccagacggcacagtggatgggtcttgcctcagaaga  
 gctgaaaactttggaagacagaaccaaatatctccatcttttgggtggaatggtgc  
 ccagcaaaaagcaggagctctgtggcatctgaaggctcaaaccagacaagcggctac  
 cagtccggatatcactccgatgacacagacaccaccgtgtactccagtgaggaagc  
 agaacttttaagctgatagagattggagtgcaaaccggtagcacagcccagattc  
 tccagcctgactcggggaccacactgagctctcctcctgttaa

Como se ha mencionado anteriormente, otro ejemplo de un siARN útil está disponible en Sirna Therapeutics (Colorado) con el nombre siARN Z. siARN Z es un ARN de interferencia (siARN) corto modificado químicamente que tiene como diana el receptor 1 del factor de crecimiento de las células del endotelio vascular (VEGFR-1). Algunos ejemplos adicionales de moléculas de ácido nucleico que modulan la síntesis, expresión y/o estabilidad de un ARNm que codifica uno o más receptores del factor de crecimiento del endotelio vascular se describen en la Pat. EEUU No. 6.818.447 (Pavco).

Así, los presentes sistemas de administración de fármacos comprenden un MAAC que incluye un siARN que tiene una secuencia de nucleótidos que es sustancialmente idéntica a la secuencia de nucleótidos de siARN Z, identificado anteriormente. Por ejemplo, la secuencia de nucleótidos de un siARN puede tener al menos una homología de secuencia del 80% con la secuencia de nucleótidos de los siARN siARN Z. Preferiblemente, un siARN de la presente invención tiene una homología en la secuencia de nucleótidos de al menos 90%, y más preferiblemente al menos 95% con los siARN siARN Z.

Otras realizaciones de los presentes sistemas pueden comprender un anticuerpo seleccionado de rambizumab o bevacizumab.

Los anticuerpos útiles en los presentes sistemas incluyen fragmentos de anticuerpo, tales como fragmentos Fab', F(ab)2, Fabc y Fv. Los fragmentos de anticuerpo pueden producirse por la modificación de anticuerpos completos o los sintetizados de novo usando metodologías de ADN recombinante e incluyen además anticuerpos "humanizados" preparados por técnicas ahora convencionales.

Un anticuerpo "se une específicamente a" o "es inmunoreactivo con" una proteína cuando el anticuerpo funciona en una reacción de unión con la proteína. La unión del anticuerpo con la proteína puede proporcionar interferencia entre la proteína y su ligando o receptor, y así la función mediada por una interacción proteína /receptor puede ser inhibida o reducida. En la técnica se conocen varios métodos para determinar si una proteína o péptido es inmunoreactivo o no con un anticuerpo. Algunos ejemplos son los ensayos de inmunométricos de quimioluminiscencia (ICMA), ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzima (ELISA) y radioinmunoensayos (RIA).

En determinadas realizaciones específicas, las presentes formulaciones pueden comprender un componente terapéutico que comprende un anticuerpo monoclonal, fragmento de éste, o polipéptido recombinante obtenido de una región variable de anticuerpo, o mezcla de éstos que interacciona con (por ejemplo, se une a o disminuye o inhibe la actividad de) VEGF. Los anticuerpos monoclonales útiles en las presentes formulaciones de fármacos oculares pueden obtenerse usando métodos rutinarios conocidos para los expertos en la técnica. Brevemente, se inyecta a animales tales como ratones una proteína diana deseada, o parte de ésta, tal como VEGF o VEGFR. La proteína diana se acopla preferiblemente a una proteína transportadora. Los animales se refuerzan con una o más inyecciones de proteína diana y se hiperimmunizan con un refuerzo intravenoso (IV) 3 días antes de la fusión. Las células del bazo de los ratones se aíslan y se fusionan por métodos estándar con células de mieloma. Los hibridomas pueden seleccionarse en medio estándar hipoxantina/aminopterina/timina (HAT), según métodos estándar. Los hibridomas que secretan anticuerpos que reconocen la proteína diana se identifican, se cultivan y se subclonan usando técnicas inmunológicas estándar y el anticuerpo se purifica, por ejemplo, por cromatografía de afinidad. Otro fragmento de anticuerpo anti-VEGF que puede usarse en las presentes formulaciones de fármaco lo producen Genentech y Novartis con la marca registrada LUCENTIS® (ranibizumab). LUCENTIS® es un derivado del anticuerpo anti-VEGF de Genentech bevacizumab, aprobado para tratamiento de cáncer colorrectal y comercializado como AVASTIN®.

En determinadas realizaciones, las presentes formulaciones pueden comprender un aptámero oligonucleotídico que se une a la forma de 165 aminoácidos de VEGF (VEGF 165). Un ejemplo de un aptámero anti-VEGF útil lo están produciendo Eyetech Pharmaceuticals y Pfizer con la marca registrada MACUGEN® (pegaptanib sodio). MACUGEN® se comercializa como una disolución líquida inyectable que comprende una disolución de 3,47 mg/ml de 0,3 mg de pegaptanib sodio en cloruro de sodio, fosfato de sodio mono y dibásico y agua. También pueden formularse aptámeros que tienen un efecto inhibitorio sobre el VEGFR, tal como VEGFR-2.

Además, los presentes sistemas pueden comprender un péptido que inhibe una uroquinasa. Por ejemplo, el péptido puede tener 8 aminoácidos y es eficaz para inhibir el activador de plasminógeno uroquinasa, uPA. El activador de plasminógeno uroquinasa se observa frecuentemente sobreexpresado en muchos tipos de cáncer humano. Así, los presentes sistemas que comprenden un inhibidor de uroquinasa pueden tratar eficazmente el cáncer y las metástasis, así como reducir el crecimiento del tumor, tal como crecimiento de tumor ocular. Un ejemplo de un inhibidor peptídico de uroquinasa se conoce como A6, que se obtiene de una región de unión no receptor de uPA e incluye los aminoácidos 136-143 de uPA.

La secuencia de A6 es Ac-KPSSPPEE-amida (SEQ ID NO: 15).

5 Algunas de las presentes formulaciones pueden incluir una combinación de A6 y cisplatino y reducen eficazmente la neovascularización en el ojo. Péptidos similares pueden tener secuencias de aminoácidos similares tal como los péptidos que tienen una actividad de inhibición similar como A6. Por ejemplo, los péptidos pueden tener sustituciones de aminoácidos conservativas. Los péptidos que tienen al menos 80% de homología y preferiblemente al menos 90% de homología con A6 pueden proporcionar la inhibición deseada de uPA.

10 MAAC adicionales pueden obtenerse o sintetizarse usando métodos convencionales, tales como síntesis química rutinaria y métodos de ADN recombinante, reacción en cadena de la polimerasa y expresión de proteínas conocidos para los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook y Russell, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL (3a ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press 2001). Los MAAC terapéuticamente eficaces pueden cribarse e identificarse usando tecnologías de cribado convencionales usadas para los MAAC descritos en la presente memoria.

Los MAAC pueden estar en una forma soluble o en una forma de partículas o de polvo en suspensión en las presentes formulaciones.

15 El MAAC de las presentes formulaciones es preferiblemente de 10% a 90% en peso de las composiciones. Más preferiblemente, el MAAC es 20% a 80% en peso de la composición. En una realización preferida, el MAAC comprende 40% en peso de la composición (por ejemplo, 30%-50%). En otra realización, el MAAC comprende 60% en peso de la composición. En otra realización más de la invención, el MAAC comprende 0,2 mg por 100 µl, ó 0,4 mg por 100 µl, ó 0,5 mg por 100 µl, ó 1,0 mg por 100 µl, ó 2,0 mg por 100 µl, ó 4,0 mg por 100 µl, ó 5,0 mg por 100 µl, ó 6,0 mg por 100 µl, ó 7,0 mg por 100 µl, ó 8,0 mg por 100 µl, ó 10 mg por 100 µl, ó 20 mg por 100 µl, ó 40 mg por 100 µl, ó 60 mg por 100 µl, ó 80 mg por 100 µl.

20 Cuando se hace referencia a un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos particular o a un ácido nucleico que tiene una secuencia de nucleótidos en esta solicitud de patente, se entenderá que dicha proteína o ácido nucleico puede contener una región que tiene al menos 80% de identidad con dicha secuencia, o al menos 85% de identidad con dicha secuencia o al menos 90% de identidad con dicha secuencia o al menos 95% de identidad con dicha secuencia o al menos 98% de identidad con dicha secuencia o 100% de identidad con dicha secuencia.

25 Además del o de los MAAC incluidos en las presentes formulaciones intraoculares, las formulaciones intraoculares también pueden incluir uno o más agentes terapéuticos oftálmicamente aceptables adicionales. Por ejemplo, la composición puede incluir uno o más antihistamínicos, uno o más antibióticos, uno o más bloqueantes beta, uno o más agonistas del receptor alfa 2 adrenérgico, uno o más esteroides, uno o más agentes antineoplásicos, uno o más agentes inmunosupresores, uno o más agentes antivirales, uno o más agentes antioxidantes y mezclas de éstos.

30 Los ejemplos de antihistamínicos incluyen, y no están limitados a, loratadina, hidroxizina, difenhidramina, clorfeniramina, bromfeniramina, ciproheptadina, terfenadina, clemastina, triprolidina, carbinoxamina, difenilpiralina, fenindamina, azatadina, tripelenamina, dexclorfeniramina, dexbromfeniramina, metdilazina, y trimprazina doxilamina, feniramina, pirlamina, quiorciclizina, tonzilamina y derivados de éstos.

35 Los ejemplos de antibióticos incluyen sin limitación, cefazolina, cefradina, cefaclor, cefapirina, ceftizoxima, cefoperazona, cefotetán, cefutoxima, cefotaxima, cefadroxil, ceftazidima, cefalexina, cefalotina, cefamandol, ceftioxima, cefonicid, ceforanida, ceftriaxona, cefadroxil, cefradina, cefuroxima, ciclosporina, ampicilina, amoxicilina, ciclacilina, ampicilina, penicilina G, penicilina V potasio, piperacilina, oxacilina, bacampicilina, cloxacilina, ticarcilina, azlocilina, carbenicilina, metcilina, nafcilina, eritromicina, tetraciclina, doxiciclina, minociclina, aztreonam, cloranfenicol, hidrocloruro de ciprofloxacina, clindamicina, metronidazol, gentamicina, lincomicina, tobramicina, vancomicina, sulfato de polimixina B, colistimetato, colistina, azitromicina, augmentina, sulfametoxazol, trimetoprim, gatifloxacina, ofloxacina y derivados de éstos.

40 Los ejemplos de bloqueantes beta incluyen acebutolol, atenolol, labetalol, metoprolol, propanolol, timolol, y derivados de éstos.

Los ejemplos de agonistas del receptor alfa 2 adrenérgico incluyen, sin limitación brimonidina y clonidina.

45 Los ejemplos de esteroides incluyen corticosteroides, tales como cortisona, prednisolona, fluometolona, dexametasona, medrisona, loteprednol, fluazacort, hidrocortisona, prednisona, betametasona, prednisona, metilprednisolona, riamcinolona hexacatónido, acetato de parametasona, diflorasona, fluocinonida, fluocinolona, triamcinolona, derivados de éstos y mezclas de éstos.

50 Los ejemplos de agentes antineoplásicos incluyen adriamicina, ciclofosfamida, actinomicina, bleomicina, duanorrubicina, doxorubicina, epirubicina, mitomicina, metotrexato, fluorouracilo, carboplatino, carmustina (BCNU), metil-CCNU, cisplatino, etopósido, interferones, camptotecina y derivados de éstos, fenesterina, taxol y derivados de éstos, taxotere y



derivados de éste, vinblastina, vincristina, tamoxifeno, etopósido, piposulfán, ciclofosfamida y flutamida y derivados de éstos.

Los ejemplos de agentes inmunosupresores incluyen ciclosporina, azatioprina, tacrolimus y derivados de éstos.

5 Los ejemplos de agentes antivirales incluyen interferón gamma, zidovudina, hidrocloruro de amantadina, ribavirina, aciclovir, valciclovir, didesoxicitidina, ácido fosfofórmico, ganciclovir y derivados de éstos.

10 Los ejemplos de agentes antioxidantes incluyen ascorbato, alfa-tocoferol, manitol, glutatión reducido, varios carotenoides, cisteína, ácido úrico, taurina, tirosina, superóxido dismutasa, luteína, zeaxantina, criotpxantina, astazantina, licopeno, N-acetil-cisteína, carnosina, gamma-glutamilcisteína, quercitina, lactoferrina, ácido dihidrolipoico, citrato, extracto de Ginkgo Biloba, catequinas del té, extracto de arándano, vitaminas E o ésteres de la vitamina E, palmitato de retinilo, y derivados de éstos.

Otros agentes terapéuticos incluyen escualamina, inhibidores de la anhidrasa carbónica, agonistas alfa, prostamidas, prostaglandinas, antiparasíticos, antifúngicos y derivados de éstos.

15 La cantidad de agente o agentes activos empleada en el implante, individualmente o en combinación, variará ampliamente dependiendo de la dosificación eficaz requerida y de la velocidad deseada de liberación del implante. Como se indica en la presente memoria, el agente será al menos 1, más habitualmente al menos 10 por ciento en peso del implante y habitualmente no más de 80, más habitualmente no más de 40 por ciento en peso de las composiciones.

Los presentes implantes se configuran para liberar una cantidad del o de los MAAC eficaz para tratar o reducir un síntoma de una afección ocular, tal como una afección ocular.

20 Las formulaciones viscosas descritas en la presente memoria también pueden configurarse para liberar el o los agentes antiexcitotóxicos o los agentes terapéuticos adicionales, como se ha descrito anteriormente, que previenen enfermedades o afecciones, tal como las siguientes:

25 Glaucoma, maculopatías/degeneración retiniana: degeneración macular, incluyendo degeneración macular relacionada con la edad (ARMD), tal como degeneración macular no exudativa relacionada con la edad y degeneración macular exudativa relacionada con la edad, neovascularización coroidal, retinopatía, incluyendo retinopatía diabética, neuroretinopatía macular aguda y crónica, corioretinopatía serosa central, y edema macular, incluyendo edema macular cistoide, y edema macular diabético.

30 Uveitis/retinitis/coroiditis: epitelopatía pigmentaria placoide multifocal aguda, enfermedad de Behcet, retinocoroidopatía en perdigonada, uveitis infecciosa (sífilis, Lyme, tuberculosis, toxoplasmosis), incluyendo uveitis intermedia (pars planitis) y uveitis anterior, coroiditis multifocal, síndrome de la mancha blanca evanescente múltiple (MEWDS), sarcoidosis ocular, escleritis posterior, coroiditis serpigínea, fibrosis subretiniana, síndrome de uveitis y síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada.

35 Enfermedades vasculares/enfermedades exudativas: enfermedad oclusiva arterial retiniana, oclusión de la vena retiniana central, coagulopatía intravascular diseminada, oclusión de la rama venosa retiniana, cambios en el fondo hipertensores, síndrome isquémico ocular, microaneurismas arteriales retinianos, enfermedad de Coat, telangiectasia parafoveal, oclusión de la vena hemi-retiniana, papiloflebitis, oclusión de la arteria retiniana central, oclusión de la rama arterial retiniana, enfermedad de la arteria carótida (CAD), angeítis de rama escarchada, retinopatía de células estrelladas y otras hemoglobiopatías, estrías angioides, vitreoretinopatía exudativa familiar, enfermedad de Eales.

40 Traumático/quirúrgico: oftalmia simpática, enfermedad retiniana uveítica, desprendimiento de retina, trauma, láser, PDT, fotocoagulación, hipoperfusión durante cirugía, retinopatía por radiación, retinopatía por trasplante de médula ósea.

Trastornos proliferativos: retinopatía vítrea proliferativa y membranas epiretinianas, retinopatía diabética proliferativa.

45 Trastornos infecciosos: histoplasmosis ocular, toxocariasis ocular, síndrome de presunta histoplasmosis ocular (POHS), endoftalmitis, toxoplasmosis, enfermedades retinianas asociadas con infección por VIH, enfermedad coroidal asociada con infección por VIH, enfermedad uveítica asociada con infección por VIH, retinitis viral, necrosis retiniana aguda, necrosis retiniana exterior progresiva, enfermedades retinianas fúngicas, sífilis ocular, tuberculosis ocular, neuroretinitis subaguda unilateral difusa y miasis.

Trastornos genéticos: retinitis pigmentosa, trastornos sistémicos con distrofias retinianas asociadas, ceguera nocturna estacionaria congénita, distrofias del cono, enfermedad de Stargardt y fundus flavimaculatus, enfermedad de Bests, distrofia en patrón del epitelio retiniano pigmentado, retinosis ligada a X, distrofia fundus de Sorsby, maculopatía concéntrica benigna, distrofia cristalina de Bietti, pseudoxantoma elasticum.

Desgarros/agujeros retinianos: desprendimiento de retina, agujero macular, desgarro retiniano gigante.

Tumores: enfermedad retiniana asociada con tumores, hipertrofia congénita del RPE, melanoma uveal posterior, hemangioma coroidal, osteoma coroidal, metástasis coroidal, hamartoma combinado de la retina y el epitelio retiniano pigmentado, retinoblastoma, tumores vasoproliferativos del fondo ocular, astrocitoma retiniano, tumores linfoides intraoculares.

Misceláneos: coroidopatía interior puntiforme, epitelopatía pigmentaria placoide multifocal posterior aguda, degeneración retiniana miópica, epitelitis del pigmento retiniano aguda y semejantes.

En una realización, una formulación viscosa que comprende un MAAC, tal como las formulaciones descritas en la presente memoria, se administra a un segmento posterior de un ojo de un paciente que es un ser humano o un animal, y preferiblemente, un ser humano o animal vivo. En al menos una realización, una formulación viscosa que contiene MAAC de la presente invención se administra (por ejemplo, se inyecta) en el espacio subretiniano del ojo y puede incluir poner la composición que contiene MAAC de la presente invención directamente en la cámara posterior del ojo. En otras realizaciones, la administración de la composición al paciente puede comprender al menos una de inyección intravítrea, inyección subconjuntival, inyección subtenon, inyección retrobulbar e inyección supracoroidal.

En al menos una realización, la mejora de la visión o el mantenimiento de la visión en un paciente comprende administrar una composición que contiene uno o más MAAC, como se describe en la presente memoria, a un paciente por al menos una de inyección intravítrea, inyección subconjuntival, inyección subtenon, inyección retrobulbar e inyección supracoroidal. Un aparato de jeringa que incluye una aguja con un tamaño apropiado, por ejemplo, una aguja de calibre 22, una aguja de calibre 27 o una aguja de calibre 30, puede usarse eficazmente para inyectar la composición en el segmento posterior de un ojo de un ser humano o animal.

En otro aspecto de la invención, se proporcionan kits para tratar una afección ocular del ojo, que comprenden: a) un contenedor que comprende una composición de liberación prolongada que comprende un componente terapéutico que incluye un MAAC en un vehículo viscoso; y b) instrucciones de uso. Dicho kit puede comprender una jeringa precargada lista para inyección.

## EJEMPLOS

Los Ejemplos siguientes no limitativos se presentan para ejemplificar aspectos de la presente invención.

### EJEMPLO 1

#### Farmacocinética Intravítrea de los MAAC en Composiciones Fluidas

Se determina la farmacocinética ocular de ranibizumab (Lucentis®; rhuFab V2e) (COMPUESTO A); bevacizumab (Avastin®; rhuMab-VEGF) (COMPUESTO B); pegaptanib (MACUGEN®) (COMPUESTO C); y siARN Z (un ARN de interferencia corto (siARN) dirigido frente a uno o los dos de los receptores de VEGF-1 o VEGF-2) (COMPUESTO D) después de una única inyección intravítrea en los ojos de conejos albinos hembras. Los animales se dosifican con una inyección de disolución salina acuosa intravítrea de 100 µl de 10 µg de cada compuesto. Se recogen muestras de humor vítreo (n=4 ojos por punto de tiempo) a las 0,5, 1, 2, 4, 8, y 12 horas después de la dosis. La concentración de cada MAAC en el humor vítreo se determina usando un método en tándem de cromatografía líquida y espectrometría de masas (LC-MS/MS).

Todos los compuestos ensayados se eliminan bastante rápidamente del ojo del conejo, teniendo los MAAC polipeptídicos generalmente una vida media mayor en la cámara posterior que el ácido nucleico siARN Z. Tomando como base los datos obtenidos en este estudio se determina que es factible la administración local sostenida de cada MAAC. Tomando como base el aclaramiento vítreo determinado en este estudio y asumiendo una concentración eficaz de estado estacionario en el doble de los valores de CE<sub>50</sub> (que pueden determinarse por un ensayo de unión a receptor *in vitro* y de Ca<sup>2+</sup> intracelular), estos compuestos podrían formularse con éxito para administración intraocular.

### EJEMPLOS COMPARATIVOS 2 A 8

Ochos composiciones son como sigue:

Tabla 1

Ingrediente	Ejemplo 1	Ejemplo 2	Ejemplo 3	Ejemplo 4
COMPUESTO A	0,5 mg	1 mg		
Hialuronato de Sodio (peso molecular medio $0,6 \times 10^6$ DALTONS)	0,05% (p/v)	0,5% (p/v)	0,05% (p/v)	0,5% (p/v)
Fosfato de Sodio	0,4% (p/v)	0,4% (p/v)	0,4% (p/v)	0,4% (p/v)
Vitamina E-TPGS	0,5% (p/v)	0,5% (p/v)	0,0	0,0
COMPUESTO B			0,5 mg	1 mg
Agua para Inyección	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
Viscosidad (a $25^{\circ}\text{C}$ ) a una velocidad de cizalla 0,1/segundo	20 mPa.s (cps)	500 mPa.s (cps)	20 mPa.s (cps)	500 mPa.s (cps)

Tabla 4

Ingrediente	Ejemplo 5	Ejemplo 6	Ejemplo 7	Ejemplo 8
COMPUESTO C	0,5 mg	1 mg		
Hialuronato de sodio (peso molecular medio $0,6 \times 10^6$ DALTONS)	0,05% (p/v)	0,5% (p/v)	0,05% (p/v)	0,5% (p/v)
Fosfato de Sodio	0,4% (p/v)	0,4% (p/v)	0,4% (p/v)	0,4% (p/v)
Vitamina E-TPGS	0,5% (p/v)	0,5% (p/v)	0,0	0,0
COMPUESTO D			0,5 mg	1 mg
Agua para Inyección	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
Viscosidad (a $25^{\circ}\text{C}$ ) a una velocidad de cizalla 0,1/segundo	20 mPa.s (cps)	500 mPa.s (cps)	20 mPa.s (cps)	500 mPa.s (cps)

5 Cada una de estas composiciones se prepara como sigue.

Una disolución concentrada de cada MAAC se prepara combinando el MAAC con agua y Vitamina E-TPGS. Estos ingredientes se mezclan y se esterilizan por filtración. El hialuronato de sodio puede adquirirse como un polvo estéril o esterilizarse por filtración de una disolución diluida seguido de liofilización para rendir un polvo estéril. El hialuronato de sodio estéril se disuelve en agua para preparar un concentrado acuoso de al menos dos veces la concentración final deseada. Cada disolución de MAAC concentrada se mezcla y se añade al concentrado de hialuronato de sodio, con agitación. Se añade c.s. de agua (cantidad suficiente, tanta como sea suficiente, en este caso tanta como se requiera para preparar la concentración de la disolución, gel o suspensión) y la mezcla se mezcla hasta la homogeneidad.

10 Estas composiciones pueden comercializarse en botellas de vidrio o jeringas de plástico de grado farmacéutico de pequeño volumen y se encuentra que son terapéuticamente eficaces como un agente terapéutico para el tratamiento de afecciones del segmento posterior del ojo, incluyendo degeneración macular relacionada con la edad y retinopatía diabética cuando se inyectan intravítreamente en los ojos humanos.

**EJEMPLOS 9 A 11**

Tres composiciones son como sigue:

Tabla 5

Ingrediente	Ejemplo 9	Ejemplo 10	Ejemplo 11
COMPUESTO A	0,5 mg	1,0 mg	2,0 mg
Hialuronato de sodio	3,0% (p/v)	2,5% (p/v)	2,0% (p/v)
Fosfato de Sodio	0,4% (p/v)	0,4% (p/v)	0,4% (p/v)
Agua para Inyección	c.s.	c.s.	c.s.
Viscosidad (a 25 <sup>0</sup> C) a una velocidad de cizalla 0,1/segundo	300.000 mPa.s (cps)	180.000 mPa.s (cps)	100.000 mPa.s (cps)

5 Estas composiciones se preparan de una manera sustancialmente análoga a la mostrada en el Ejemplo comparativo 2.

Las altas viscosidades de las composiciones retrasan sustancialmente la velocidad de difusión del MAAC cuando se administran en el ojo tal como por inyección intravítrea. Estas composiciones pueden comercializarse en jeringas precargadas ya que no pueden extraerse fácilmente con una aguja o jeringa de un contenedor. Sin embargo, con las composiciones en jeringas precargadas, las composiciones pueden inyectarse eficazmente en el segmento posterior de un ojo de un ser humano usando una aguja de calibre 27 o de calibre 30 para proporcionar un efecto terapéutico deseado en el ojo humano.

10

Las composiciones de los Ejemplos 9 a 11 emplean o contienen una concentración suficiente de hialuronato de sodio de alto peso molecular como para formar un tapón gelatinoso o depósito de fármaco después de la inyección intravítrea en un ojo humano.

15 **EJEMPLOS 12 Y 13**

Dos composiciones son como sigue:

Tabla 3

Ingrediente	Ejemplo 12	Ejemplo 13
COMPUESTO D	0,5 mg	1 mg
Hialuronato de sodio (polimérico)	2,5% (p/v)	2,3% (p/v)
Cloruro de sodio	0,63% (p/v)	0,63% (p/v)
fosfato de sodio dibásico, heptahidrato	0,30% (p/v)	0,30% (p/v)
fosfato de sodio monobásico, monohidrato	0,04% (p/v)	0,04% (p/v)
Agua para Inyección	c.s.	c.s.
Viscosidad (a 25 <sup>0</sup> C) a una velocidad de cizalla 0,1/segundo	170.000 ± 25% mPa.s (cps)	200.000 ± 25% mPa.s (cps)

Estas composiciones se preparan de una manera sustancialmente análoga a la mostrada en el Ejemplo comparativo 2.

Estas composiciones pueden comercializarse en jeringas precargadas ya que no pueden extraerse fácilmente con una aguja o jeringa de un contenedor. Sin embargo, con las composiciones en jeringas precargadas, las composiciones pueden inyectarse eficazmente en el segmento posterior de un ojo de un ser humano usando una aguja de calibre 27 o de calibre 30 para proporcionar un efecto terapéutico deseado en el ojo humano.

- 5 Los polvos de hialuronato de sodio usados en estas composiciones (así como en las demás composiciones identificadas en los Ejemplos de la presente memoria) tienen contenidos de agua en un intervalo de 4% a 20%, preferiblemente 4% a 8%, en peso. Las diferencias en el peso molecular medio del hialuronato usado pueden resultar en variación en la viscosidad de las composiciones según la presente invención de manera que las composiciones tienen las mismas composiciones químicas nominales. Así, las viscosidades indicadas en la presente memoria deben entenderse que son viscosidades diana, siendo la composición aceptable para usarse si la viscosidad real de la composición es más o menos ( $\pm$ ) 25% ó 30% ó 35% de la viscosidad diana.

Como cada una de las composiciones mostradas en los Ejemplos tiene una densidad de 1 gm/ml, los porcentajes mostrados en la presente memoria como basados en peso por volumen (p/v) también pueden considerarse como basados en peso por peso (p/p).

- 15 Las composiciones de los Ejemplos 1, 10-13 emplean o contienen una concentración suficiente de hialuronato de sodio de alto peso molecular (es decir, polimérico) de manera que se forma un tapón gelatinoso o depósito de fármaco después de la inyección intravítrea en un ojo humano. Preferiblemente el peso molecular medio del hialuronato usado es menor de 2 millones y más preferiblemente el peso molecular medio del hialuronato usado es entre 1,3 millones y 1,6 millones. Como las disoluciones de hialuronato de sodio se someten a fluidificación por cizalla dramático, estas formulaciones se inyectan fácilmente mediante jeringas de calibre 27 o incluso de calibre 30.

Las formulaciones de los Ejemplos 1, 10-13 pueden usarse para tratar, por ejemplo, degeneración macular exudativa, retinopatía diabética, edema macular, oclusión de la vena retiniana central y oclusión de la rama venosa retiniana. De forma importante, estas formulaciones se preparan usando sólo excipientes que son oftálmicamente aceptables; esto es, compatibles (es decir, no tóxicos) con el ojo, particularmente con la retina.

#### 25 EJEMPLO 14

##### Tratamiento del Edema Macular con la Composición de MAAC Intravítrea

- Una paciente femenina de 64 años obesa con síntomas de diabetes se presenta con pérdida de visión debida a edema macular con oclusión de la vena retiniana central y/o oclusión de la rama venosa retiniana. Recibe una inyección intravítrea de 1 mg de una disolución de MAAC con viscosidad alta (basada en hialuronato polimérico) que contiene el COMPUESTO D, tal como la formulación del Ejemplo 13. Se hacen inyecciones equivalentes cada 4 meses.

Doce meses después de la primera inyección la paciente demuestra una mejor agudeza visual corregida mejorada de quince o más letras desde la línea base como se determina usando el gráfico de agudeza visual del Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study (ETDRS).

#### EJEMPLO 15

##### Tratamiento de una Afección Ocular Posterior con la Composición con Viscosidad Alta de Ranibizumab Intravítrea

- Los pacientes con una afección ocular posterior (tal como un edema macular, uveítis o degeneración macular) pueden tratarse por inyección intravítrea de 1 mg ó 2 mg de un MAAC en un gel con viscosidad alta (basado en hialuronato polimérico) que contiene el COMPUESTO A, sustancialmente similar a la formulación del Ejemplo 12 ó 13. Alternativamente, la formulación puede administrarse por inyección subconjuntival para tratar la afección ocular posterior.
- 40 Estos pacientes pueden demostrar 3 meses o más después de la inyección una mejor agudeza visual corregida mejorada de quince o más letras desde la línea base como se determina usando el gráfico de agudeza visual del Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study (ETDRS).

#### EJEMPLO 16

##### Tratamiento de Degeneración Macular con Bevacizumab (AVASTIN®) Intravítreo en un Gel con Viscosidad Alta

- 45 Un hombre de 79 años se presenta con distorsión y pérdida visual significativas; el examen retiniano revela una neovascularización coroidal exudativa en la región de la mácula de ambos ojos. Se proporciona al paciente una dosis tópica de un agente hipotensor ocular y una inyección intravítrea de una composición viscosa de 1 mg de bevacizumab en 2% ácido polihialurónico preparada (excepto por el ingrediente activo) de una manera similar a la composición usada en el Ejemplo 15 en el ojo izquierdo. El ojo derecho no se trata. Se hacen inyecciones de seguimiento de una manera idéntica cada 6 semanas durante un periodo de 52 semanas.

Al final del periodo de tratamiento, la velocidad de pérdida de visión del paciente es aproximadamente 0,125 letras por semana en el ojo tratado, frente a aproximadamente 0,5 letras por semana en el ojo no tratado.

EJEMPLO COMPARATIVO 17

Tratamiento de la Retinopatía Diabética con ADNECTIN® CT-322 con Viscosidad Alta

- 5 Se administra a un hombre de 50 años que padece retinopatía diabética crónica agravada por el alcohol una composición con viscosidad alta que comprende 2 mg de una preparación de ADNECTIN® CT-322 PEGilada que contiene 2% (p/v) de hialuronato de sodio, preparada sustancialmente como se indica en el Ejemplo 15, por inyección intravítrea. Antes del tratamiento la pérdida de visión progresa a una velocidad de 0,4 letras por semana en cada ojo. El tratamiento se repite cada seis semanas durante 52 semanas. El paciente se ensaya 56 semanas después del inicio del
- 10 tratamiento. La pérdida de visión es menos de 8 letras durante 56 semanas.

Aunque esta invención se ha descrito respecto a varios ejemplos y realizaciones específicas, debe entenderse que la invención no está limitada a éstos.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición para tratar una afección ocular por administración de la composición en el interior de un ojo de un mamífero, comprendiendo la composición una cantidad terapéuticamente eficaz de un componente anti-angiogénico macromolecular (MAAC) seleccionado de siARN Z, pegaptanib, rambizumab y bevacizumab, en la que la composición también comprende un componente inductor de la viscosidad que es ácido hialurónico que tiene un peso molecular medio de 1,3 millones-2 millones de Daltons.
2. La composición de la reivindicación 1 en la forma de una disolución.
3. La composición de la reivindicación 1 en la forma de un gel.
4. La composición de la reivindicación 1 en la forma de una suspensión.
5. La composición de la reivindicación 1 en la que un síntoma de la afección ocular es la angiogénesis.
6. La composición de la reivindicación 1 en la que dicho componente inductor de la viscosidad tiene una viscosidad de al menos 100 mPa.s a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo a 25<sup>0</sup>C, o al menos 1.000 mPa.s a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo a 25<sup>0</sup>C, o al menos 10.000 mPa.s a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo a 25<sup>0</sup>C, o al menos 70.000 mPa.s a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo a 25<sup>0</sup>C, o al menos 200.000 mPa.s a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo a 25<sup>0</sup>C, o al menos 250.000 mPa.s a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo a 25<sup>0</sup>C, o al menos 300.000 mPa.s a una velocidad de cizalla de 0,1/segundo a 25<sup>0</sup>C.
7. La composición de la reivindicación 1 que es para administración en el interior de dicho ojo por colocación en el segmento posterior del ojo mediante una aguja de calibre 27 o mediante una aguja de calibre 30.
8. La composición de la reivindicación 1 en la que dicha afección ocular es una afección del segmento posterior del ojo.
9. La composición de la reivindicación 1 en la que dicha afección se selecciona del grupo que consiste en degeneración macular, incluyendo degeneración macular no exudativa relacionada con la edad y degeneración macular exudativa relacionada con la edad, neovascularización coroidal, retinopatía, retinopatía diabética, neuroretinopatía macular aguda y crónica, corioretinopatía serosa central, edema macular, epitelio patía pigmentaria placoide multifocal aguda, enfermedad de Behcet, retinocoroidopatía en perdigonada, escleritis posterior, coroiditis serpigínosa, fibrosis subretiniana, síndrome de uveítis, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, enfermedad oclusiva arterial retiniana, oclusión de la vena retiniana central, coagulopatía intravascular diseminada, oclusión de la rama venosa retiniana, cambios del fondo hipertensores, síndrome isquémico ocular, microaneurismas arteriales retinianos, enfermedad de Coat, telangiectasia parafoveal, oclusión de la vena hemi-retiniana, papiloflebitis, oclusión de la arteria retiniana central, oclusión de la rama arterial retiniana, enfermedad de la arteria carótida (CAD), angeítis de rama escarchada, retinopatía de células estrelladas, estrías angioides, vitreoretinopatía exudativa familiar, enfermedad de Eales, retinopatía vítrea proliferativa, retinopatía diabética proliferativa, enfermedad retiniana asociada con tumores, hipertrofia congénita de RPE, melanoma uveal posterior, hemangioma coroidal, osteoma coroidal, metástasis coroidal, hamartoma combinado de la retina y epitelio pigmentado retiniano, retinoblastoma, tumores vasoproliferativos del fondo ocular, astrocitoma retiniano, tumores linfoides intraoculares, degeneración retiniana miópica y epitelitis aguda del pigmento retiniano.

