

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 644 752**

51 Int. Cl.:

A61P 27/02	(2006.01) A61K 39/395	(2006.01)
A61K 38/08	(2006.01) A61K 31/00	(2006.01)
A61K 38/10	(2006.01) A61K 38/17	(2006.01)
A61K 38/12	(2006.01)	
A61K 9/00	(2006.01)	
A61F 9/00	(2006.01)	
A61K 39/00	(2006.01)	
A61K 38/00	(2006.01)	
A61K 49/00	(2006.01)	
A61K 47/06	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.01.2007 PCT/US2007/001649**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **26.07.2007 WO07084765**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.01.2007 E 07718112 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.06.2017 EP 1993673**

54 Título: **Terapia de combinación inyectable para trastornos oculares**

30 Prioridad:

19.01.2006 US 760974 P
06.10.2006 US 544389

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.11.2017

73 Titular/es:

APELLIS PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
6400 Westwind Way, Suite A
Crestwood, KY 40014, US

72 Inventor/es:

DESCHATELETS, PASCAL;
OLSON, PAUL y
FRANCOIS, CEDRIC

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 644 752 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

Terapia de combinación inyectable para trastornos oculares

5 Antecedentes de la invención

5 Degeneración macular es un término que se refiere a y describe una diversidad de enfermedades diferentes
 10 caracterizadas por cambios degenerativos en la mácula, todos los cuales conducen a una pérdida de la visión
 central. La mácula es un área pequeña de la retina del ojo, de aproximadamente 3 a 5 milímetros de tamaño,
 15 adyacente al nervio óptico. Es el área más sensible de la retina y contiene la fovea, una región deprimida que
 permite alta agudeza visual y contiene una densa concentración de conos, los fotorreceptores que son responsables
 de la visión del color. La degeneración macular relacionada con la edad (ARMD) es la causa más habitual de
 20 ceguera funcional en los países desarrollados para aquellos con más de 50 años de edad. La enfermedad se
 caracteriza por degeneración progresiva de la retina, el epitelio pigmentario retiniano (RPE), y la coroides
 subyacente (el tejido altamente vascular que descansa debajo del RPE, entre la retina y la esclerótica). Las células
 del RPE reciclan pigmento visual (rodopsina), fagocitan los extremos de los fotorreceptores diariamente como parte
 de la regeneración de bastones y conos, y transportan fluido a través de la membrana de la coroides. La visión
 central se deteriora cuando las células del RPE dejan de funcionar de forma apropiada. A pesar de la investigación
 exhaustiva, la patogénesis de la ARMD no se comprende completamente. Pueden contribuir estrés oxidativo,
 inflamación, antecedentes genéticos, y factores ambientales o de comportamiento tales como fumar y la dieta.

Un distintivo clínico de la ARMD es la aparición de drusas, depósitos localizados de material lipoproteínico que se
 25 acumula en el espacio entre el RPE y la membrana de Bruch. Las drusas son por lo general el hallazgo clínico más
 temprano de la ARMD, y la existencia, ubicación, y número de drusas se usan en la clasificación de la enfermedad
 en estadios y progresión de monitorización (Ambati, J., *et al.*, *Surv. Ophthalmol.*, 48(3): 257-293, 2003; "Preferred
 Practice Pattern: Age-Related Macular Degeneration", American Academy of Ophthalmology, 2003).

Se ha clasificado la ARMD en las formas "seca" y "húmeda" (exudativa, o neovascular). La ARMD seca es mucho
 30 más habitual que la húmeda, pero la forma seca puede progresar hacia la forma húmeda, y producirse las dos
 simultáneamente en un número considerable de casos. La ARMD seca se caracteriza por lo general por apoptosis
 progresiva de las células del RPE, las células fotorreceptoras suprayacentes, y frecuentemente también las células
 subyacentes de la capa capilar coroidal. Las áreas de confluencia (por ejemplo, al menos 175 µm de diámetro
 35 mínimo) de muerte de células de RPE acompañadas por atrofia de fotorreceptores suprayacentes se denominan
 atrofia geográfica. Los pacientes con esta forma experimentan un deterioro lento y progresivo de la visión central. La
 ARMD húmeda se caracteriza por hemorragia y/o derrame de fluidos de vasos anómalos que han crecido a partir de
 los vasos coroidales (coriocapilares) por debajo del RPE y la mácula. Esto puede ser responsable de una pérdida de
 40 visión repentina y discapacitante. Gran parte de la pérdida de visión que experimentan los pacientes se debe a tal
 neovascularización coroidal (CNV) y a sus complicaciones. Se ha identificado un subtipo de ARMD neovascular en
 el que la proliferación angiomasica se origina a partir de la retina y se extiende posteriormente al espacio
 subretiniano, comunicando finalmente en algunos casos con nuevos vasos coroidales (Yannuzzi, L.A., *et al.*, *Retina*,
 21(5):416-34, 2001). Esta forma de ARMD neovascular, denominada proliferación angiomasica retiniana (RAP)
 puede ser particularmente grave. La existencia de drusas maculares es un factor de riesgo importante para el
 desarrollo tanto de la forma húmeda como la forma seca de ARMD.

45 Los paneles de la Figura 1 muestran las estructuras presentes en un ojo normal y algunos de los procesos que se
 producen en la ARMD. Las Figuras 1A y 1B muestran las estructuras presentes en los segmentos anterior y
 posterior del ojo. Las Figuras 1C-1E representan las capas exteriores de un ojo normal (1C), un ojo que padece
 ARMD seca (1D), y un ojo que padece ARMD húmeda (1E). La capa nuclear exterior (ONL) contiene núcleos de los
 fotorreceptores bastones y conos. Cada fotorreceptor contiene un segmento interior (IS) y un segmento exterior
 50 (OS), el último de los cuales contiene el pigmento rodopsina, que inicia la cascada de fototransducción que sigue a
 la exposición a la luz. El RPE descansa bajo los fotorreceptores y sobre la membrana de Bruch. Como se muestra
 en las Figuras 1D y 1E, la estructura normal de la retina está alterada mediante una diversidad de formas como en
 los pacientes que ARMD.

55 El edema macular está asociado a una diversidad de trastornos oculares que incluyen ARMD, retinopatía diabética,
 afecciones inflamatorias tales como uveítis anterior o posterior, etc. La mácula se vuelve espesa como resultado de
 la acumulación de fluido que se pierde de los vasos sanguíneos debilitados o anómalos de otro modo de los tejidos
 circundantes. El derrame de sangre u otros fluidos y el aumento resultante en el espesor macular puede conducir a
 60 alteraciones agudas en la agudeza visual, percepción del color, etc. De ese modo, el edema macular puede
 contribuir a las alteraciones y pérdidas visuales que experimentan los individuos que padecen ARMD y una
 diversidad de otros trastornos oculares.

El desarrollo de terapias farmacológicas para ARMD y otros trastornos oculares asociados a la neovascularización
 65 del ojo es un área de investigación activa. Se ha centrado gran cantidad de esfuerzo en métodos para destruir o
 sellar los vasos sanguíneos anómalos y/o inhibir su desarrollo. La terapia fotodinámica implica administración
 intravenosa sistémica de un colorante sensible a la luz (verteporfina) que se activa en el ojo mediante un láser,

dando como resultado la formación de productos tóxicos dentro de los vasos sanguíneos anómalos. La administración local de inhibidores de la angiogénesis en el ojo se muestra considerablemente prometedora. La Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos de América aprobó el fármaco pegaptanib sódico (Macugen®; Pfizer/Eyetech) para el tratamiento de degeneración macular relacionada con la edad húmeda a finales del 2004. Macugen es un aptámero que se une a una isoforma del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), una proteína que actúa como señal en el desencadenamiento del crecimiento de vasos sanguíneos anómalos, el aumento de permeabilidad, y el derrame consecuente que caracteriza la ARMD húmeda. La unión de Macugen al VEGF evita que se una a los receptores de VEGF, inhibiendo de ese modo su actividad. Otros inhibidores de la angiogénesis para el tratamiento de ARMD exudativa incluyen anticuerpos monoclonales tales como ranibizumab (Lucentis®; Genentech) que se unen al VEGF y bloquean su interacción con los receptores de VEGF.

Los inhibidores de la angiogénesis que interfieren con las rutas de transducción de señal que desempeñan un papel fundamental en la angiogénesis, tales como la ruta del VEGF, ofrecen un poderoso enfoque para controlar la neovascularización. Sin embargo, la terapia con inhibidores de la angiogénesis sola tiene una diversidad de desventajas. Los ensayos clínicos de los inhibidores de la angiogénesis que interfieren con la ruta del VEGF han implicado su administración en solución por inyección intravítrea a intervalos de 4-6 semanas. Desafortunadamente, este procedimiento está asociado a un riesgo significativo de complicaciones tales como lesión traumática del cristalino, desprendimiento de retina, y endoftalmitis asociada a traumatismo o infección intraocular. Con un riesgo global de un 1 %, durante el curso de un año, un intervalo de dosificación de 6 semanas daría como resultado un riesgo global de aproximadamente un 9 % por ojo, mientras que un intervalo de dosificación de 4 semanas daría como resultado un riesgo global de aproximadamente un 13 % por ojo. Por estas y otras razones, los enfoques actuales para el uso de inhibidores de la angiogénesis siguen siendo una solución menos que óptima para tratar ARMD húmeda. Sigue existiendo la necesidad en la técnica de enfoques mejorados para tratar ARMD. También sigue existiendo la necesidad de enfoques mejorados para tratar otras afecciones caracterizadas por degeneración macular, neovascularización coroidal, neovascularización retiniana, proliferación angiomasosa retiniana, y/o derrame de vasos sanguíneos en el ojo.

El resumen de la invención

La invención es como se define en las reivindicaciones. En un primer aspecto, la presente invención proporciona un primer y un segundo agentes terapéuticos para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular caracterizado por degeneración macular, neovascularización coroidal o neovascularización retiniana, en el que se administran al ojo del sujeto cantidades eficaces del primer y el segundo agentes terapéuticos, opcionalmente en un procedimiento individual; el primer agente terapéutico es un agente anti-VEGF seleccionado entre el grupo que consiste en anticuerpos o fragmentos de anticuerpo que se unen a VEGF, una proteína de fusión que contiene dominios extracelulares de dos receptores de VEGF conectados a la región Fc de un anticuerpo, y ácidos nucleicos que se unen al VEGF; y el segundo agente terapéutico se selecciona entre el grupo que consiste en un análogo de compstatina que tiene al menos una actividad inhibidora de complemento 5 veces mayor que la compstatina, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo monoclonal que se une a C3 y un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que se une a C5, factor B o factor D.

Ciertas características preferentes de la invención se exponen en las reivindicaciones dependientes en el presente documento. En ciertas realizaciones de la invención, al menos una parte del primer agente terapéutico, opcionalmente básicamente la dosis completa administrada del primer agente terapéutico, se proporciona en forma de un componente de una formulación de liberación sostenida. El primer y el segundo agentes terapéuticos se pueden proporcionar en forma de componentes de una formulación de liberación sostenida individual o en forma de componentes de formulaciones de liberación sostenida distintas.

En ciertas realizaciones de la invención, el procedimiento es un procedimiento de inyección, por ejemplo, una inyección intravítrea. En ciertas realizaciones, el procedimiento es un procedimiento de inyección en el que, antes de la administración, el primer agente terapéutico está contenido en una jeringa y la formulación de liberación sostenida que comprende el segundo agente terapéutico está contenida en una aguja unida a la jeringa. Por ejemplo, el primer agente terapéutico puede estar disuelto en un medio líquido situado en la jeringa y la formulación sostenida del segundo agente terapéutico puede comprender un implante ocular situado en la aguja.

En cualquier realización de la invención, la formulación de liberación sostenida puede comprender un implante ocular. En cualquier realización de la invención, la formulación de liberación sostenida puede comprender un polímero y uno o más agentes terapéuticos.

En otro aspecto, la invención proporciona un artículo de fabricación que comprende el primer y el segundo agentes terapéuticos del primer aspecto, en el que el artículo de fabricación comprende una aguja que contiene el segundo agente terapéutico, en el que el artículo de fabricación comprende además opcionalmente una jeringa, tal como una jeringa que contiene el primer agente terapéutico y/o en el que el artículo de fabricación contiene una forma de dosificación unitaria del primer agente terapéutico y/o una forma de dosificación unitaria del segundo agente terapéutico.

El artículo de fabricación puede comprender además una jeringa, en el que el artículo de fabricación contiene al menos un compartimento y la jeringa y la aguja están alojadas en un compartimento individual del artículo de fabricación y/o en el que la jeringa y la aguja están unidas entre sí o en el que el artículo de fabricación contiene al menos dos compartimentos, y en el que la jeringa y la aguja están alojadas en compartimentos individuales.

En otro aspecto, la invención proporciona un artículo de fabricación que comprende el primer y el segundo agentes terapéuticos del primer aspecto, en el que cada agente terapéutico está contenido en una jeringa individual y en el que el artículo de fabricación comprende además opcionalmente una aguja.

En cualquier realización de la presente invención, el trastorno ocular puede ser una afección relacionada con degeneración macular, retinopatía diabética, retinopatía de la prematuridad, o cualquier afección que presente CNV, RNV, o RAP.

El primer agente terapéutico se puede seleccionar entre el grupo que consiste en: Macugen® (pegaptanib sódico) u otro aptámero o ligando de ácido nucleico del VEGF; Lucentis® (ranibizumab), Avastin® (bevacizumab) u otro anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a VEGF; combretastatina o un derivado o profármaco de la misma tal como Combretastatina A4 Profármaco (CA4P); trampa de VEGF; EVIZON™ (lactato de escualamina); AG-013958 (Pfizer, Inc.); JSM6427 (Jerini AG), β 2-glicoproteína 1 (β 2-GP1), y ARN pequeño de interferencia (siARN) o ARN de horquilla pequeña (shARN) que inhibe la expresión de una o más isoformas del VEGF, o inhibe la expresión de un receptor de VEGF. En ciertas realizaciones de la invención, el agente terapéutico no es un esteroide.

Los expertos en la materia entenderán que ciertos compuestos incluidos en las estructuras del presente documento pueden exhibir tautomería, isomería conformacional, isomería geométrica y/o estereoisomería. Se ha de entender que la invención incluye el uso de cualquier forma tautomérica, isomérica conformacional, enantiomérica y/o isomérica geométrica de los compuestos que se describen en el presente documento. Cualquier referencia en el presente documento que emplee una nomenclatura que corresponda a fórmulas estructurales ilustradas que representen solo una de varias formas tautoméricas (o estructuras de resonancia) no se pretende que limite el alcance de los compuestos que se describen en el presente documento. Los expertos en la materia también reconocerán que los compuestos que se desvelan para el uso en la invención pueden existir en numerosos estados de protonación diferentes que dependen, entre otras cosas, del pH de su entorno. Cuando las fórmulas estructurales que se proporcionan en el presente documento representan los compuestos en solo uno de varios estados de protonación posibles, se ha de entender que estas estructuras son únicamente ilustrativas, y que la invención no se limita a ningún estado de protonación particular - se pretende que todas y cada una de las formas protonadas entren dentro del alcance de la invención.

En ciertas realizaciones, los compuestos de uso en la presente invención pueden portar múltiples cargas positivas o negativas y pueden tener asociados a los mismos los contraiones apropiados. La identidad de los contraiones que están asociados puede estar gobernada por los métodos de síntesis y/o aislamiento mediante los que se obtienen los compuestos. Los contraiones incluyen, pero no se limitan a, cloruro y otros haluros, acetato, trifluoroacetato, citrato, sulfato, fosfato, etc., y las mezclas de los mismos. Se ha de entender que la identidad de cualquier contraión asociado no es una característica crítica y que la invención incluye los compuestos en asociación con cualquier tipo de contraión. Además, dado que los compuestos pueden existir en una diversidad de formas diferentes, se pretende que la invención incluya no solo las formas que están en asociación con contraiones (por ejemplo, sales secas), sino también las formas que no están en asociación con contraiones (por ejemplo, soluciones acuosas u orgánicas).

A menos que se indique de otro modo o sea claramente evidente de otro modo a partir del contexto, la invención hace uso de métodos convencionales de biología molecular, cultivo celular, mantenimiento de animales, examen oftálmico, y administración de agentes terapéuticos a sujetos, etc., y usa los significados aceptados en la técnica de los términos. La presente solicitud hace referencia a diversos documentos de patente y publicaciones.

Además, se hace referencia a las siguientes publicaciones:

Current Protocols in Molecular Biology, Current Protocols in Immunology, Current Protocols in Protein Science, y Current Protocols in Cell Biology, todas de John Wiley & Sons, N.Y., edición a partir de julio de 2002; Sambrook, Russell, y Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 2001; Kuby Immunology, 4ª ed, Goldsby, R.A., Kindt, T.J., y Osborne, B. (eds.); W.H. Freeman, 2000, Goodman y Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10ª Ed. McGraw Hill, 2001, Katzung, B. (ed.) Basic and Clinical Pharmacology, McGraw-Hill/Appleton & Lange; 9ª edición (diciembre de 2003), Ophthalmic Surgery: Principles and Practice, 3ª ed., W.B. Saunders Company, 2002; Albert, DM y Lucarelli, MJ (eds.), Clinical Atlas of Procedures in Ophthalmic Surgery, American Medical Association, 2003. En el caso de un conflicto o inconsistencia entre cualquiera de las referencias incorporadas y la presente memoria descriptiva, prevalecerá la memoria descriptiva, entendiéndose que la determinación de si existe un conflicto o inconsistencia entra dentro del criterio de los inventores y se puede realizar en cualquier momento.

Breve descripción de las figuras

Las figuras 1A-1E muestran representaciones esquemáticas de los segmentos anterior y posterior del ojo (1A y 1B) y de las capas exteriores del ojo (1C-1E). La figura 1C representa un ojo normal. La figura 1D representa un ojo que padece ARMD seca. La figura 1E representa un ojo que padece ARMD exudativa. ONL = capa nuclear exterior; IS = segmento interior; OS = segmento exterior; RPE = capa epitelial retiniana de pigmento; BM = membrana de Bruch; CC = coriocapilares. De Tezel, T., *et al.*, Trends in Molecular Medicine, 10(9), 417-420, 2004.

La figura 2 muestra una secuencia consenso para una repetición consenso corta (SCR), un módulo descubierto en proteínas de control del complemento. De Smith, SA, *et al.*, J. Virol. 74(12), 5659-5666, 2000.

Las figuras 3A y 3B muestran secuencias del precursor de la proteína de control del complemento del virus vacuna (SEQ ID NO: 33) y la proteína de control del complemento del virus vacuna madura (SEQ ID NO: 34).

La figura 4 muestra una comparación de secuencia de proteínas de control del complemento maduras de una diversidad de aislados de ortopoxvirus (SEQ ID NO: 35 - 42). Se enumeran los sitios genéticos correspondientes. Modificado de Smith, SA, *et al.*, J. Virol. 74(12), 5659-5666, 2000.

La figura 5 muestra una comparación de la estructura del dominio de SCR de una diversidad de proteínas de control del complemento y fragmentos de las mismas, el número de restos K + R, % de restos K + R, pl, número de sitios de unión de heparina putativos, y capacidad para inhibir la hemólisis y/o unirse a heparina. Modificado de Smith, SA, *et al.*, J. Virol. 74(12), 5659-5666, 2000. Los dominios son módulos de SCR. De ese modo, por ejemplo, rVCP SCR (2, 3, 4), es un polipéptido producido de forma recombinante que contiene las SCR 2, 3, y 4 de VCP.

La figura 6 muestra la secuencia de aminoácidos de SPICE (SEQ ID NO: 44).

La figura 7 muestra la estructura de la compstatina y la estructura de un análogo de compstatina que muestra una actividad inhibitoria del complemento aumentada con respecto a la compstatina. La figura también muestra el valor de CI_{50} de la compstatina y del análogo de compstatina para la inhibición del complemento humano. Los aminoácidos 4 y 9 de la cadena peptídica que se representan en la parte superior de la figura son como se muestran en la parte inferior izquierda para la compstatina y como se muestran en la parte inferior derecha para el análogo de compstatina. De ese modo, las cajas marcadas como "X4" y "X9" en la cadena de polipéptido representan las cadenas laterales de los aminoácidos X4 y X9 que se muestran en la parte inferior de la figura para la compstatina (izquierda) y el análogo de compstatina (derecha), respectivamente.

La figura 8 muestra un compuesto a modo de ejemplo para su uso en la invención.

La figura 9 muestra un montaje de aguja/jeringa cargado con el primer y el segundo agentes terapéuticos.

Definiciones

"Período de actividad" se refiere al período de tiempo durante el que un sujeto experimenta una mejoría en uno o más síntomas y/o signos de un trastorno después de la administración de un agente terapéutico, con respecto a las condiciones o al estado de línea basal existentes antes de la administración del agente terapéutico. El período de actividad comienza cuando el sujeto experimenta la primera mejoría y termina cuando las condiciones o el estado del sujeto vuelven a la línea basal que existía antes de la administración de la gente.

"Angiogénesis" o "angiogénico" se refieren a la formación, crecimiento, y/o desarrollo de nuevos vasos sanguíneos.

Las expresiones "inhibidor de la angiogénesis" y "agente antiangiogénico" se usan de forma intercambiable en el presente documento para referirse a agentes que son capaces de inhibir o reducir uno o más procesos asociados a la angiogénesis que incluyen, pero no se limitan a, proliferación de células endoteliales, supervivencia de células endoteliales, migración de células endoteliales, diferenciación de células precursoras en células endoteliales, y formación de tubo capilar.

"Anticuerpo", como se usa en el presente documento, se refiere a una inmunoglobulina o a una parte de la misma que se une a un antígeno. Un anticuerpo puede ser natural o producirse total o parcialmente de forma sintética. Un anticuerpo se puede obtener a partir de fuentes naturales, por ejemplo, se puede purificar a partir de un animal tal como un roedor, conejo, o gallina, que se ha inmunizado con un antígeno o un constructo que codifica el antígeno.

Un anticuerpo puede ser un miembro de cualquier clase de inmunoglobulinas, incluyendo cualquiera de las clases humanas: IgG, IgM, IgA, IgD, e IgE. Un anticuerpo de uso en la presente invención puede ser un fragmento de anticuerpo tal como Fab', F(ab')₂, scFv (cadena variable individual) u otro fragmento que retenga un sitio de unión a antígeno, o un fragmento scFv producido de forma recombinante, incluyendo fragmentos producidos de forma recombinante que comprendan un dominio de unión a antígeno de inmunoglobulina. Véase, por ejemplo, Allen, T., Nature Reviews Cancer, Vol. 2, 750-765, 2002, y las referencias en el mismo. Los fragmentos de anticuerpo que contienen el idiotipo de la molécula de anticuerpo se pueden generar mediante técnicas conocidas. Por ejemplo, los fragmentos F(ab')₂ se pueden producir mediante digestión con pepsina de la molécula de anticuerpo, los fragmentos Fab' se pueden producir por reducción de los puentes disulfuro del fragmento F(ab')₂, o por tratamiento de la molécula de anticuerpo con papaína y un agente reductor. Un anticuerpo puede ser un multímero de anticuerpo o un multímero de fragmentos de anticuerpo. Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, y/o dominios de proteína que comprenden un sitio de unión a antígeno se pueden generar y/o seleccionar *in vitro*, por ejemplo, usando técnicas

tales como presentación sobre fagos (Winter, G. *et al.*, Annu. Rev. Immunol. 12:433-455, 1994), presentación sobre ribosomas (Hanes, J., y Pluckthun, A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94:4937-4942, 1997), etc.

Un anticuerpo puede ser policlonal (por ejemplo, un anticuerpo policlonal purificado por afinidad) o monoclonal. Un "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a una población básicamente homogénea de anticuerpos o a un miembro de tal población, es decir, los anticuerpos individuales que comprende la población son idénticos excepto por posibles mutaciones de origen natural que puedan estar presentes en cantidades minoritarias. A diferencia de las preparaciones de anticuerpo policlonal que por lo general incluyen diferentes anticuerpos dirigidos frente a diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal está dirigido frente a un único determinante del antígeno y por lo tanto es altamente específico. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo de obtenerse a partir de una población básicamente homogénea de anticuerpos, y no se interpreta que sea necesaria la producción del anticuerpo mediante ningún método particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se usan de acuerdo con la presente invención se pueden preparar mediante el método del hibridoma descrito por primera vez por Kohler & Milstein, Nature 256: 495, 1975 o, alternativamente, se pueden preparar mediante métodos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, el documento de Patente de Estados Unidos n.º 4.816.567).

Un anticuerpo puede ser un anticuerpo "quimérico" en el que, por ejemplo, se fusiona un dominio variable de origen roedor con un dominio constante de origen humano, reteniendo de ese modo la especificidad del anticuerpo de roedor. El dominio de origen humano no necesita originarse directamente en un ser humano en el sentido de que se sintetice en primer lugar en un ser humano. En su lugar, se pueden generar dominios "humanos" en roedores cuyo genoma incorpore genes de inmunoglobulina humana. Tal anticuerpo se considera al menos parcialmente "humanizado". El grado en que un anticuerpo está "humanizado" puede variar. De ese modo, una parte o la mayoría del dominio variable de un anticuerpo de roedor se puede reemplazar con secuencias humanas, por ejemplo, mediante mutagénesis dirigida a sitio o un polinucleótido que codifique el anticuerpo o una parte del mismo. De acuerdo con un enfoque, se injertan regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de roedor, por ejemplo, murinas, en las regiones marco conservadas ligera variable (VL) y pesada variable (VH) de moléculas de inmunoglobulina humana, mientras se retienen solo los residuos de la región marco conservada de roedor considerados esenciales para la integridad del sitio de unión a antígeno. Véase Gonzales NR, Tumour Biol. Enero-febrero;26(1):31-43, 2005 para una revisión de diversos métodos para minimizar la antigenicidad de un anticuerpo monoclonal. Tales anticuerpos quiméricos humanos o humanizados son a menudo preferentes para su uso en terapia de enfermedades o trastornos humanos, dado que es menos probable que los anticuerpos humanos o humanizados induzcan una respuesta inmune.

Se conoce una diversidad de métodos para determinar si un anticuerpo reacciona o no con, o se une específicamente a, tal antígeno y, si se desea, para determinar la afinidad de tal unión. Algunos ejemplos incluyen ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA), radioinmunoensayos (RIA), y similares. La unión de un anticuerpo a una molécula diana tal como una proteína puede inhibir o interferir la actividad de la molécula diana. Por ejemplo, la unión de un anticuerpo a un ligando tal como un factor de crecimiento puede interferir la unión del ligando a su receptor o receptores; la unión de un anticuerpo a un receptor puede interferir la unión del receptor a su ligando o ligandos.

Los términos "aproximadamente" o "alrededor", por referencia a un número, incluyen números que entran dentro de un intervalo de un 5 % en cualquier dirección (mayor o menor) del número a menos que se indique de otro modo o sea evidente de otro modo a partir del contexto (excepto cuando tal número excediera del 100 % de un posible valor).

"Biocompatible" se refiere a un material que es básicamente no tóxico para las células de un receptor en las cantidades y en la ubicación usadas, y no provoca ni causa ningún efecto perjudicial o adverso significativo en el cuerpo del receptor en la ubicación usada, por ejemplo, una reacción inmunológica o inflamatoria inaceptable, formación de tejido cicatricial inaceptable, etc. Un material que es biocompatible con el ojo no interfiere básicamente la fisiología o la función del ojo.

"Biodegradable" significa que un material es capaz de descomponerse física y/o químicamente en las células o en el cuerpo de un sujeto, por ejemplo, mediante hidrólisis en condiciones fisiológicas y/o mediante procesos biológicos naturales tales como la acción de las enzimas presentes en las células o en el cuerpo, y/o mediante procesos tales como disolución, dispersión, etc., para formar especies químicas más pequeñas que por lo general se pueden metabolizar y, opcionalmente, usar por parte del cuerpo, y/o excretar o desechar de otro modo. Preferentemente, un compuesto biodegradable es biocompatible. Un polímero cuyo peso molecular disminuye a lo largo del tiempo *in vivo* debido a la reducción del número de monómeros se considera biodegradable.

Una "macromolécula biológica" es una molécula de gran tamaño compuesta por subunidades más pequeñas del tipo que se encuentra en los sistemas biológicos. Algunos ejemplos incluyen polipéptidos, ácidos nucleicos, y polisacáridos. Por lo general, una macromolécula biológica contiene al menos 3 subunidades (por ejemplo, aminoácidos, nucleósidos, monosacáridos, etc.). La macromolécula biológica puede ser un polipéptido, ácido

nucleico, o polisacárido de origen natural. La macromolécula biológica puede estar modificada, por ejemplo, puede estar conjugada a una molécula no biológica tal como un polímero sintético, etc.

5 Las expresiones "caracterizado por degeneración macular, neovascularización coroidal, neovascularización retiniana, o cualquier combinación de las anteriores" y "caracterizado por degeneración macular, neovascularización coroidal, o neovascularización retiniana" pretenden indicar que la degeneración macular, CNV, y/o RNV, es un rasgo característico (es decir, habitual) del trastorno. La degeneración macular, CNV, y/o RNV, pueden ser un rasgo definitorio y/o diagnóstico del trastorno.

10 "Neovascularización coroidal" (CNV) se refiere al desarrollo, proliferación, y/o crecimiento anómalo de vasos sanguíneos que surgen de los coriocapilares. Los vasos sanguíneos se extienden por lo general a través de la membrana de Bruch, la capa de RPE, y/o el espacio subretiniano.

15 Un "componente del complemento" o "proteína del complemento" es una molécula que esta implicada en la activación del sistema de complemento o participa en una o más actividades mediadas por el complemento. Los componentes de la ruta clásica del complemento incluyen, por ejemplo, C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, y el complejo C5b-9, también denominado complejo de ataque a membrana (MAC) y fragmentos activos o productos de escisión enzimática de cualquiera de los anteriores (por ejemplo, C3a, C3b, C4a, C4b, C5a, etc.). Los componentes de la ruta alternativa incluyen, por ejemplo, los factores B, D, H, e I, y properdina.

20 Los términos "suministrar" o "suministro", en el contexto de un dispositivo de suministro de fármaco o formulación de liberación sostenida, se refiere a la liberación de un agente terapéutico en su entorno circundante en el cuerpo.

25 Un "dispositivo de suministro de fármaco" se refiere a un dispositivo, estructura, o elemento que contiene y/o suministra un agente terapéutico a un sujeto. La liberación del fármaco se puede producir, pero no necesariamente, como resultado de la degradación del dispositivo de suministro de fármaco en el cuerpo. La expresión "dispositivo de suministro de fármaco" se usa en el presente documento para referirse a dispositivos que contienen un agente terapéutico y a dispositivos que aún no se han cargado con el agente terapéutico. Un implante ocular es un dispositivo de suministro de fármaco que tiene las dimensiones y la estructura apropiadas para su colocación en el
30 ojo. Preferentemente, un dispositivo de suministro de fármaco ocular no interfiere básicamente con la fisiología y/o el funcionamiento del ojo, por ejemplo, el dispositivo no causa ninguna alteración o una alteración mínima en la visión.

Una "cantidad eficaz" de un agente activo se refiere a la cantidad del agente activo suficiente para provocar una respuesta biológica deseada. Como entenderán los expertos habituales en esta materia, la cantidad absoluta de un agente particular que es eficaz puede variar dependiendo de factores tales como el punto final biológico deseado, el agente que se suministra, el tejido diana, etc. Los expertos habituales en la materia también entenderán que una "cantidad eficaz" se puede administrar en una dosis individual, o se puede conseguir mediante administración de dosis múltiples. Por ejemplo, una cantidad eficaz de un agente terapéutico para el tratamiento de un trastorno ocular puede ser una cantidad suficiente para tratar el trastorno, por ejemplo, una cantidad suficiente para conseguir uno o
40 más de los siguientes: (i) inhibir o prevenir la formación de drusas; (ii) causar la reducción en el número y/o el tamaño de drusas (regresión de drusas); (iii) causar una reducción en o prevenir los depósitos de lipofusina; (iv) inhibir o prevenir la pérdida visual o ralentizar la velocidad de pérdida visual; (v) inhibir la neovascularización coroidal o ralentizar la velocidad de neovascularización coroidal; (vi) causar una reducción en el tamaño y/o número de lesiones caracterizadas por neovascularización coroidal; (vii) inhibir la neovascularización coroidal o ralentizar la velocidad de neovascularización retiniana; (viii) causar una reducción en el tamaño y/o número de lesiones caracterizadas por neovascularización retiniana; (ix) mejorar la agudeza visual y/o sensibilidad de contraste; (x) reducir el edema macular y/o reducir el espesor macular anómalo; (xi) inhibir o prevenir la atrofia o apoptosis de fotorreceptores o células del RPE, o reducir la velocidad de atrofia o apoptosis de fotorreceptores o células del RPE; (xii) inhibir o prevenir el progreso de degeneración macular no exudativa a degeneración macular exudativa.

50 "Trastorno del ojo", que se usa de forma intercambiable en el presente documento con "trastorno ocular", se refiere a cualquier enfermedad, trastorno, o afección que implica o afecta al ojo o a una o más porciones, estructuras, o partes del ojo. El ojo incluye el globo ocular, los músculos periorbitales, y la parte del nervio óptico que está dentro de o es adyacente al globo ocular.

55 Degeneración macular "exudativa" se usa en el presente documento como sinónimo de degeneración macular de tipo "húmeda", tal como se entienden generalmente estos términos en la técnica, es decir, para referirse a una afección relacionada con degeneración macular tal como ARMD caracterizada por neovascularización y/o la presencia de un exudado.

60 "Identidad" se refiere al grado en que son iguales las secuencias de dos o más ácidos nucleicos o polipéptidos. El porcentaje de identidad entre una secuencia de interés y una segunda secuencia con respecto a una ventana de evaluación, por ejemplo, con respecto a la longitud de la secuencia de interés, se puede calcular por alineación de las secuencias, determinación del número de restos (nucleótidos o aminoácidos) dentro de la ventana de evaluación que están enfrentados a un resto idéntico que permite la introducción de separaciones para maximizar la identidad, división por el número total de restos de la secuencia de interés o de la segunda secuencia (que es mayor) que entra
65

dentro de la ventana, y multiplicación por 100. Por separación se pretende indicar una parte de una secuencia que no está ocupada por ningún resto. Por ejemplo, la secuencia A K L - - - S I G (SEQ ID NO: 43) contiene una separación de tres restos. Cuando se calcula el número de restos idénticos necesarios para conseguir un porcentaje de identidad particular, las fracciones se han de redondear al número entero más cercano. El porcentaje de identidad se puede calcular con el uso de una diversidad de programas de ordenador conocidos en la técnica. Por ejemplo, los programas de ordenador tales como BLAST2, BLASTN, BLASTP, Gapped BLAST, etc., generan alineaciones y proporcionan el porcentaje de identidad entre una secuencia de interés y secuencias de cualquiera de una diversidad de bases de datos públicas. El algoritmo de Karlin y Altschul (Karlin y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:22264-2268, 1990) modificado como en Karlin y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877, 1993 está incorporado en los programas NBLAST y XBLAST de Altschul *et al.* (Altschul, *et al.*, J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990).

Para obtener alineaciones espaciadas con fines de comparación, se utiliza Gapped BLAST como se describe en Altschul *et al.* (Altschul, *et al.* Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402, 1997). Cuando se utilizan los programas BLAST y Gapped BLAST, se usan los parámetros por defecto de los respectivos programas. Se puede usar una matriz PAM250 o BLOSUM62. Véase el sitio web que tiene el URL www.ncbi.nlm.nih.gov para estos programas. En una realización específica, el porcentaje de identidad de una secuencia de interés y una segunda secuencia se calcula usando BLAST2 con los parámetros por defecto.

"Terapia invasiva", como se usa en el presente documento, es una terapia que implica la inserción de un instrumento o dispositivo en el ojo o la órbita, por ejemplo, entrada en o penetración del globo ocular o entrada en la órbita mediante un instrumento tal como una aguja, trocar, catéter, o similar.

Los "liposomas" son partículas esféricas microscópicas artificiales formadas por una bicapa (o múltiples capas) lipídica que encierra un compartimento acuoso. Los liposomas se pueden usar para suministrar ciertas composiciones de la invención.

La expresión "agente terapéutico de acción prolongada" se refiere a un agente terapéutico que tiene un período de actividad de al menos 3 meses cuando se administra en cantidades médicamente aceptables. Una "cantidad médicamente aceptable" se refiere a una cantidad que no causa toxicidad o efectos adversos inaceptables en las condiciones de administración.

"Afección relacionada con degeneración macular" se refiere a cualquiera de una diversidad de trastornos y afecciones en las que la mácula degenera o pierde actividad funcional. La degeneración o pérdida de actividad funcional puede surgir como resultado de, por ejemplo, muerte celular, disminución de la proliferación celular, y/o pérdida de la función biológica normal. La degeneración macular puede conducir a y/o manifestarse como alteraciones en la integridad estructural de la matriz celular y/o extracelular de la mácula, una alteración en la arquitectura normal de la matriz celular y/o extracelular, y/o la pérdida de función de las células maculares. Las células pueden ser cualquier tipo de célula normalmente presente en o cercana a la mácula incluyendo células del RPE, fotorreceptores, y/o células endoteliales capilares. La ARMD es la principal afección relacionada con degeneración macular. Otras incluyen distrofia macular de Best, distrofia del *fundus* de Sorsby, *Mallatía Leventinese* y distrofia retiniana en panal de Doyme.

Degeneración macular "no exudativa" se usa en el presente documento como sinónimo de degeneración macular de tipo "seco" como se usan generalmente estas expresiones en la técnica, para referirse a una afección relacionada con degeneración macular, por ejemplo, ARMD, en la que no se han producido la neovascularización y/o el exudado que serían detectables usando métodos convencionales tales como angiografía con fluoresceína.

"Implante ocular" se refiere a un dispositivo o estructura que tiene las dimensiones, forma, y/o configuración adecuadas y está hecho de los materiales apropiados para que se pueda colocar en el ojo sin causar una interferencia inaceptable con la fisiología o el funcionamiento del ojo. Preferentemente, la colocación de un implante ocular no altera significativamente la visión. Un implante ocular es por lo general un artículo de fabricación sólido o semisólido y es por lo general macroscópico, es decir, visible a simple vista.

"Pluralidad" significa más de uno.

"Polipéptido", como se usa en el presente documento, se refiere a un polímero de aminoácidos, que incluye opcionalmente uno o más análogos de aminoácido. Una proteína es una molécula compuesta por uno o más polipéptidos. Un péptido es un polipéptido relativamente corto, por lo general entre aproximadamente 2 y 60 aminoácidos de longitud. Los términos "proteína", "polipéptido", y "péptido" se pueden usar de forma intercambiable.

Los polipéptidos que se usan en el presente documento pueden contener aminoácidos tales como los que se encuentran de forma natural en las proteínas, aminoácidos que no se encuentran de forma natural en las proteínas, y/o análogos de aminoácido que no son aminoácidos. Se conoce un gran número de análogos reconocidos en la técnica de los 20 aminoácidos encontrados habitualmente en las proteínas (los aminoácidos "convencionales"). Como se usa en el presente documento, un "análogo" de un aminoácido puede ser un aminoácido diferente que se parece estructuralmente al aminoácido (un aminoácido "no convencional") o un compuesto distinto de un aminoácido

que se parece estructuralmente al aminoácido. Se pueden modificar uno o más de los aminoácidos de un polipéptido, por ejemplo, mediante la adición de una entidad química tal como un grupo carbohidrato, un grupo fosfato, un grupo farnesilo, un grupo isofarnesilo, un grupo ácido graso, un conector para conjugación, funcionalización, u otra modificación, etc. Se describen ciertos análogos y modificaciones adecuados no limitantes en el documento de Patente WO2004026328. El polipéptido puede estar acetilado, por ejemplo, en el extremo N-terminal y/o amidado, por ejemplo, en el extremo C-terminal.

Las modificaciones naturales u otras modificaciones químicas tales como las que se han descrito anteriormente se pueden producir en cualquier lugar de un polipéptido, incluyendo la cadena principal del péptido, las cadenas laterales de los aminoácidos y los extremos terminales amino o carboxilo. Un polipéptido dado puede contener numerosos tipos de modificaciones. Los polipéptidos pueden estar ramificados o pueden ser cíclicos, con o sin ramificaciones. Los polipéptidos pueden estar conjugados a, encapsulados por, o embebidos en un polímero o matriz polimérica, dendrímero, nanopartícula, micropartícula, liposoma, o similar. Los polipéptidos de uso en la presente invención, por ejemplo, se pueden purificar a partir de fuentes naturales, producir *in vitro* o *in vivo* en sistemas de expresión adecuados que usan tecnología de ADN recombinante (por ejemplo, mediante células hospedadoras recombinantes o en animales o plantas transgénicos), sintetizar mediante medios químicos tales como síntesis de péptidos en fase sólida convencional y/o métodos que implican unión química de los péptidos sintetizados (véase, por ejemplo, Kent, S., *J Pept Sci.*, 9(9):574-93, 2003 y el documento de Patente de Estados Unidos n.º 20040115774), o cualquier combinación de estos. La expresión "secuencia de polipéptido" o "secuencia de aminoácidos", como se usa en el presente documento, se puede referir al propio material del polipéptido y no se restringe a la información de la secuencia (es decir, la sucesión de letras o códigos de tres letras seleccionada entre las letras y los códigos usados como abreviaturas para los nombres de los aminoácidos) que caracteriza bioquímicamente un polipéptido. Una secuencia de polipéptido presentada en el presente documento se presenta en la dirección de N-terminal a C-terminal a menos que se indique de otro modo.

"Poxvirus" se refiere a una familia de virus complejos de ADN bicatenario que constituye la familia *Poxviridae*. La familia incluye los ortopoxvirus, un género de la familia *Poxviridae*, subfamilia *Chordopoxvirinae*, que comprende numerosas especies que infectan a los mamíferos. Se describen poxvirus en Fields, BN, *et al.*, *Fields Virology*, 3ª ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2001. Los ortopoxvirus incluyen virus vacuna, virus de la viruela mayor, virus de la viruela menor, virus de la viruela bovina, virus de la viruela de los monos, virus de la viruela de los camellos, virus de la viruela porcina, y virus ectromelia.

"Proteína de control del complemento de poxvirus" se refiere a los miembros de una familia de proteínas homólogas codificadas por una diversidad de poxvirus diferentes que se unen a una o más proteínas de la ruta del complemento e inhiben la ruta clásica de la activación del complemento, la ruta alternativa de la activación del complemento, la ruta de la lectina, o cualquier combinación de estas. Las proteínas de control del complemento de poxvirus son miembros de la superfamilia de proteínas de control del complemento (CCP), también denominadas reguladores de activación del complemento (RCA) (Reid, KBM y Day, AJ, *Immunol Today*, 10:177-80, 1989).

"Segmento posterior del ojo" se refiere a la parte del ojo detrás del cristalino, que incluye el humor vítreo, la coroides, y la retina (incluyendo la mácula).

"Mejora rápida del estado del ojo de un sujeto" se refiere a una mejora clínicamente significativa de uno o más síntomas y/o signos de un trastorno ocular que se produce en dos semanas, o preferentemente en una semana, después de la administración de un agente terapéutico. La mejora rápida del estado del ojo de un paciente puede incluir, sin limitación, uno cualquiera o más de los siguientes: aumento de la agudeza visual (es decir, ganar dos o más líneas de visión en una carta de agudeza visual), disminución de la distorsión visual, aumento de la sensibilidad de contraste, disminución de derrame de vasos retinianos, disminución del espesor macular (por ejemplo, una disminución en el espesor macular de al menos un 50 % desde un valor de línea base). En general, "rápido", como se usa en el presente documento por referencia a un efecto terapéutico u otro efecto biológico, significa que se produce en dos semanas o menos después de un suceso de referencia (por ejemplo, la administración de un agente terapéutico). En algunas realizaciones, "rápido" significa que se produce en una semana o menos después de un suceso de referencia.

"Neovascularización retiniana" se refiere al desarrollo, proliferación, y/o crecimiento anómalo de vasos sanguíneos sobre o en la retina, por ejemplo, sobre la superficie retiniana (es decir, como será evidente para el experto habitual en la materia, la proliferación, y/o el crecimiento anómalo se originan en los vasos sanguíneos ya presentes sobre o en la superficie). "Retiniano" hace referencia aquí a la fuente de la neovascularización.

"Procedimiento individual" significa un procedimiento, es decir, un proceso o serie de etapas o actos que implica una entrada individual en o penetración del globo ocular o entrada en la órbita mediante un instrumento tal como una aguja, trocar, catéter, o similar. Por ejemplo, una inyección ocular, por ejemplo, una inyección intravítrea, es un procedimiento individual siempre que la punta de la aguja, una vez se ha insertado en el globo ocular, no se reintroduzca en el globo ocular una vez se haya retirado del mismo. Un procedimiento individual puede implicar o no implicar múltiples penetraciones de una o más estructuras del ojo, por ejemplo, el humor vítreo, siempre que solo tenga lugar una única entrada en o penetración del globo ocular.

"Molécula pequeña" se refiere a compuestos orgánicos, ya sean de origen natural o creados artificialmente (por ejemplo, mediante síntesis química) que tienen un peso molecular relativamente bajo y que no son proteínas, polipéptidos, ni ácidos nucleicos. Por lo general, las moléculas pequeñas tienen un peso molecular de menos de aproximadamente 1500 g/mol y múltiples enlaces carbono-carbono.

"Unión específica" se refiere generalmente a una asociación física entre un polipéptido diana (o, más generalmente, una molécula diana) y una molécula de unión tal como un anticuerpo o ligando. La asociación depende por lo general de la presencia de un rasgo estructural particular en la diana tal como un determinante antigénico o epítipo reconocido por la molécula de unión. Por ejemplo, si un anticuerpo es específico para el epítipo A, la presencia de un polipéptido que contenga el epítipo A o la presencia de A libre sin marcar en una reacción que contenga tanto A libre marcado como la molécula de unión que se une a la misma, reducirá la cantidad de A marcado que se une a la molécula de unión. Se ha de entender que la especificidad no necesita ser absoluta sino que generalmente se refiere al contexto en el que se produce la unión. Por ejemplo, se conoce bien en la técnica que numerosos anticuerpos tienen reactividad cruzada con otros epítopos además de los presentes en la molécula diana. Tal reactividad cruzada puede ser aceptable dependiendo de la aplicación para la que se va a usar el anticuerpo. El experto habitual en la materia será capaz de seleccionar anticuerpos o ligandos que tengan un grado suficiente de especificidad para que lleven a cabo de forma apropiada cualquier aplicación dada (por ejemplo, para detección de una molécula diana, con fines terapéuticos, etc.). También se ha de entender que la especificidad se puede evaluar en el contexto de factores adicionales tales como la afinidad de la molécula de unión por la diana frente a la afinidad de la molécula de unión por otras dianas, por ejemplo, competidores. Si una molécula de unión exhibe una alta afinidad por una molécula diana que se desea detectar y una baja afinidad por moléculas no diana, el anticuerpo será probablemente un reactivo aceptable. Una vez se establece la especificidad de una molécula de unión en uno o más contextos, se puede emplear en otros contextos, preferentemente similares, sin necesidad de reevaluar su especificidad. La unión de dos o más moléculas se puede considerar específica si la afinidad (constante de equilibrio de disociación, Kd) es 10^{-3} M o menos, preferentemente 10^{-4} M o menos, más preferentemente 10^{-5} M o menos, por ejemplo, 10^{-6} M o menos, 10^{-7} M o menos, 10^{-8} M o menos, o 10^{-9} M o menos en las condiciones de ensayo, por ejemplo, en condiciones fisiológicas.

"Estabilizar", como se usa en el presente documento con respecto a un trastorno ocular, significa reducir la velocidad de progreso del trastorno y/o prevenir o reducir la probabilidad de un empeoramiento rápido y perceptible de las condiciones de un ojo afectado por el trastorno.

"Sujeto", como se usa en el presente documento, se refiere a un individuo al que se va a suministrar un agente, por ejemplo, con fines experimentales, diagnósticos, y/o terapéuticos. Los sujetos preferentes son mamíferos, por ejemplo, primates, o seres humanos. Un sujeto bajo el cuidado de un médico u otro proveedor de atención sanitaria se puede denominar "paciente".

"Homología de secuencia considerable", aplicado a una secuencia, significa que la secuencia presenta al menos aproximadamente un 60 % de identidad, de forma deseable al menos aproximadamente un 70 % de identidad, de forma más deseable al menos aproximadamente un 80 % de identidad, y de la forma más deseable al menos aproximadamente un 90 % de identidad con respecto a una secuencia de referencia. Cuando se comparan dos o más secuencias, cualquiera de ellas se puede considerar como la secuencia de referencia. El % de identidad se puede calcular usando un algoritmo FASTA, BLASTN, o BLASTP. Se pueden usar los parámetros por defecto. Se puede usar una matriz PAM250 o BLOSUM62.

Una "formulación de liberación sostenida" o "formulación de suministro sostenido" es una composición de materia que comprende un agente terapéutico como uno de sus componentes y comprende o tiene además uno o más componentes, elementos, o estructuras eficaces para proporcionar la liberación sostenida del agente terapéutico, opcionalmente en parte como consecuencia de la estructura física de la formulación. En algunas realizaciones, la estructura se proporciona al menos en parte mediante el propio agente terapéutico y, opcionalmente, una o más sustancias presentes en el sitio de administración. La liberación sostenida es la liberación o suministro que se produce de forma continua o intermitente durante un período de tiempo, por ejemplo, de al menos 1, 2, 4, o 6 semanas, al menos 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, o 24 meses, o mayor.

"Agente terapéutico" se usa de forma intercambiable en el presente documento con "fármaco", para referirse a cualquier agente farmacéuticamente activo útil para tratar un trastorno. El término incluye cualquier sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, sal de un profármaco, y derivados de un agente activo tales como se conocen en la técnica o se producen fácilmente usando métodos convencionales conocidos en la técnica. "Profármaco" se refiere a un precursor de un fármaco, en el que el profármaco no es farmacológicamente activo por sí mismo (o tiene una actividad menor o diferente que la actividad deseada del fármaco) pero se convierte, después de la administración (por ejemplo, mediante el metabolismo) en el fármaco farmacéuticamente activo. Un agente terapéutico puede ser, sin limitación, una molécula pequeña o una macromolécula biológica tal como una proteína (por ejemplo, un anticuerpo) o un ácido nucleico tal como un aptámero, siARN, etc.

"Tratar", como se usa en el presente documento, se refiere a proporcionar tratamiento, es decir, proporcionar cualquier tipo de administración médica o quirúrgica de un sujeto con el fin de revertir, aliviar, inhibir el progreso de,

prevenir o reducir la probabilidad de una enfermedad, trastorno, o afección, o con el fin de revertir, aliviar, inhibir o prevenir el progreso de, prevenir o reducir la probabilidad que uno o más síntomas o manifestaciones de una enfermedad, trastorno o afección. "Prevenir" se refiere a hacer que no se produzca una enfermedad, trastorno, afección, o un síntoma o manifestación de los mismos. Tratar puede incluir administrar un agente al sujeto después del desarrollo de uno o más síntomas o manifestaciones indicativos de una afección tal como degeneración macular o retinopatía diabética, por ejemplo, con el fin de revertir, aliviar, reducir la gravedad de, y/o inhibir o prevenir el progreso de la afección y/o revertir, aliviar, reducir la gravedad de, y/o inhibir uno o más síntomas o manifestaciones de la afección. Una composición de la presente invención se puede administrar a un sujeto que ha desarrollado un trastorno ocular tal como ARMD exudativa o no exudativa o retinopatía diabética o tiene un alto riesgo de desarrollar tal trastorno con respecto a un miembro de la población general. Una composición de la presente invención se puede administrar de forma profiláctica, es decir, antes del desarrollo de cualquier síntoma o manifestación de esa condición. Por lo general, en este caso, el sujeto tendrá riesgo de desarrollar la afección.

"Forma de dosificación unitaria", como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto que se va a tratar (por ejemplo, para un ojo individual); conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de un agente activo seleccionado para producir los efectos terapéuticos deseados, opcionalmente junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, que se puede proporcionar en una cantidad predeterminada. La forma de dosificación unitaria puede ser, por ejemplo, un volumen de un líquido (por ejemplo, un vehículo farmacéuticamente aceptable) que contiene una cantidad predeterminada de un agente terapéutico, una cantidad predeterminada de un agente terapéutico en forma sólida, un implante ocular que contiene una cantidad predeterminada de un agente terapéutico, una pluralidad de nanopartículas o micropartículas que contienen colectivamente una cantidad predeterminada de un agente terapéutico, etc. Se ha de entender que una forma de dosificación unitaria puede contener una diversidad de componentes además del agente terapéutico. Por ejemplo, se pueden incluir vehículos, diluyentes, estabilizantes, tampones, conservantes farmacéuticamente aceptables, etc.

Descripción detallada de ciertas realizaciones de la invención

I. Visión de conjunto

La presente invención proporciona agentes terapéuticos para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular caracterizado por degeneración macular, CNV, o RNV. La invención también proporciona artículos de fabricación que comprenden los agentes terapéuticos. Los trastornos a modo de ejemplo que se pueden tratar de acuerdo con la invención incluyen, pero no se limitan a, afecciones relacionadas con degeneración macular, retinopatía diabética, y retinopatía de la prematuridad. Aunque los conceptos que subyacen a la invención se describen en el presente documento por referencia particular al tratamiento de ARMD húmeda u otras afecciones caracterizadas por CNV y/o RNV, se aplican a una diversidad de trastornos oculares (y otros trastornos) diferentes.

La invención incluye el reconocimiento de que los proveedores de atención ocular, por ejemplo, los oftalmólogos, a menudo son reacios a administrar un agente terapéutico, por ejemplo, un inhibidor de la angiogénesis, usando un procedimiento invasivo tal como una inyección intravítrea que esté asociado al riesgo de una complicación grave a menos que exista una probabilidad considerable de que la terapia produzca una mejora rápida del estado del ojo del paciente. Pueden ser reacios a usar un procedimiento invasivo para administrar una terapia que posiblemente pueda prevenir o retrasar el futuro empeoramiento o desestabilización de un ojo que es, al menos desde el punto de vista sintomático, relativamente estable. De forma similar, los pacientes son a menudo reacios a experimentar la administración de un agente terapéutico usando un procedimiento invasivo asociado al riesgo de complicación grave a menos que hayan experimentado recientemente un empeoramiento o desestabilización perceptible en el estado de sus ojos y exista una probabilidad considerable de que la administración del agente terapéutico dé como resultado una mejora rápida y/o perceptible del estado. Los pacientes con un ojo en un estado relativamente estable a menudo son reacios a experimentar un procedimiento invasivo que administre un agente terapéutico que pueda detener o ralentizar el progreso del trastorno si el procedimiento se asocia al riesgo de una complicación grave.

Como consecuencia, cuando la administración de un agente terapéutico implica un procedimiento invasivo asociado a un riesgo de una complicación grave, los pacientes se pueden tratar basándose en cada caso y en los síntomas, mejor que de acuerdo con una programación de dosificación predeterminada y recomendada que implicaría al menos en parte administrar el agente mientras que el estado del paciente sea aparentemente estable, al menos desde un punto de vista sintomático. Esto parece ser el caso incluso aun después de que la programación de dosificación predeterminada recomendada pueda tener el potencial de retrasar o inhibir una futura desestabilización o empeoramiento. Se ha observado que en una clínica del ojo bien conocida, se administró un inhibidor de la angiogénesis a pacientes con ARMD exudativa basándose en los síntomas, en respuesta a un empeoramiento o desestabilización repentina en el estado de un ojo del paciente o en respuesta a la presencia de exudado (por ejemplo, hemorragia), mejor que de acuerdo con un programa de dosificación predeterminados.

Los ensayos clínicos han demostrado que ciertos inhibidores de la angiogénesis, por ejemplo, Macugen y Lucentis, son beneficiosos en términos de parámetros importantes tales como agudeza visual cuando se administran según se recomienda, es decir, por administración intravítrea repetida de una solución que contiene el agente. Por ejemplo, la

administración de ciertos inhibidores de la angiogénesis disminuye la velocidad de pérdida visual y puede conducir al menos a una mejora temporal en la agudeza visual. Basándose en los ensayos clínicos, el intervalo de dosificación recomendado para Lucentis es de 4 semanas (véase, por ejemplo, Heier, J.S., *et al.*, Invest Ophthalmol Vis Sci, 44: resumen electrónico 972, 2003), mientras que el intervalo de dosificación recomendado para Macugen es de 6 semanas (véase, por ejemplo, Gragoudas ES, N Engl J Med., 351(27):2805-16, 2004). Avastin, aunque no aprobado en la actualidad para el tratamiento de trastornos oculares por la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos de América, se ha aprobado para el tratamiento de ciertos cánceres y está disponible para uso en el ojo. Dado que Lucentis y Avastin actúan de forma similar por unión a las isoformas de VEGF, estos agentes pueden tener efectos terapéuticos similares.

La administración repetida de inhibidores de la angiogénesis de acuerdo con los intervalos de dosificación que se han descrito anteriormente podría dar como resultado una mejora sostenida en el estado del ojo del paciente por inhibición además de la neovascularización y el derrame de vasos sanguíneos. Sin embargo, dado el riesgo asociado a la inyección intravítrea, los oftalmólogos parecen reacios a administrar una terapia asociada a un riesgo considerable mientras los síntomas del paciente permanezcan básicamente estables. De forma similar, los pacientes parecen reacios a someterse a un procedimiento con un riesgo considerable cuando sus síntomas permanecen básicamente estables.

Por lo tanto, como resultado del deseo de evitar inyecciones intravítreas, puede que los inhibidores de la angiogénesis no se administren de acuerdo con los intervalos de dosificación recomendados o predeterminados. En su lugar, en la práctica estos agentes se pueden administrar en una base sintomática, por ejemplo, después de que un sujeto haya experimentado un empeoramiento o desestabilización en el estado del ojo tal como una pérdida aguda de agudeza visual y/o la presencia de exudado con respecto a unas condiciones de línea basal, por ejemplo, con respecto a las condiciones mejoradas que resultaron después de la administración de la dosis previa del inhibidor de la angiogénesis. Tal empeoramiento o desestabilización se puede producir en un punto temporal variable e impredecible después de la mejora inicial. En lugar de retirar del paciente el inhibidor de la angiogénesis cuando el paciente está sintomáticamente estable en un esfuerzo de prevenir el futuro empeoramiento o desestabilización, con el posible riesgo de causar una complicación grave, el tratamiento se puede posponer hasta que el sujeto haya experimentado en realidad empeoramiento o desestabilización de un modo tal que sea probable que el tratamiento dé como resultado una mejora sintomática además de cualquier posible efecto preventivo. De ese modo, el deseo de evitar la inyección intravítrea de un ojo que está sintomáticamente estable tiene un efecto significativo y hasta el momento inapreciado en la práctica clínica. En esencia, la relación de riesgo/beneficio según se percibe por los oftalmólogos y los pacientes puede dictar el intervalo de administración de los inhibidores de la angiogénesis que se debería llevar a cabo en una base individualizada, después del empeoramiento o desestabilización del ojo de un paciente, mejor que de acuerdo con un intervalo de dosificación predeterminado de aproximadamente 4 o 6 semanas. No está claro si el tratamiento en base sintomática tendrá una eficacia mayor, menor, o equivalente en una base a largo plazo (por ejemplo, durante períodos de un año o más) con respecto al tratamiento de acuerdo con la programación de dosificación recomendada y predeterminada. Sin embargo, en vista del riesgo inequívoco y conocido de complicaciones asociadas a la inyección intravítrea, los oftalmólogos y los pacientes pueden estar dispuestos a renunciar al posible aumento de beneficio a largo plazo que podría resultar de la administración de terapia antiangiogénica a intervalos predeterminados de 4-6 semanas en lugar de sobre una base sintomática.

En resumen, las observaciones de los inventores sugieren que los oftalmólogos y los pacientes son reacios a aceptar los riesgos asociados a la inyección intravítrea a menos que exista una probabilidad significativa de que la terapia administrada de ese modo dé como resultado una mejora rápida en el estado del ojo del paciente. Sin embargo, este modo de administración puede no ser óptimo en términos de proporcionar mejora a largo plazo en y/o estabilización del estado del ojo del paciente.

La presente invención incluye el reconocimiento de que el tratamiento dirigido por síntomas puede ser menos que óptimo para prevenir o retrasar el empeoramiento adicional en el estado del paciente. Además, una formulación de un agente terapéutico que sea preferente u óptima para producir la mejora rápida en el estado del ojo de un paciente puede no ser preferente u óptima para conseguir mejora y/o estabilización a largo plazo. Por ejemplo, en el caso de trastornos oculares, la mejora rápida se puede conseguir de la mejor manera mediante administración local de un agente terapéutico en solución o en una forma en la que se libere rápidamente, de un modo tal que se consiga rápidamente una alta concentración del agente en la ubicación donde se desea la actividad. Sin embargo, el beneficio a largo plazo se puede conseguir de la mejor manera mediante administración local de una formulación de liberación sostenida de un agente terapéutico que proporcione una concentración menor aunque aún terapéuticamente eficaz del agente terapéutico. Además, o alternativamente, el agente o agentes terapéuticos que son los más apropiados para aliviar síntomas particulares pueden ser menos apropiados para proporcionar un beneficio a largo plazo.

"Administrar" o "administración" se refiere generalmente a introducir un agente terapéutico, composición, formulación, etc., en un sitio o ubicación deseados en o dentro del cuerpo de un sujeto, por ejemplo, un sitio o ubicación dentro del ojo. La administración se puede llevar a cabo, por ejemplo, mediante un proveedor de atención sanitaria. Con fines de conveniencia, la presente memoria descriptiva se refiere generalmente a los oftalmólogos. Sin

embargo, los métodos que se describen en el presente documento, incluyendo tanto los métodos de la invención como otros métodos (por ejemplo, métodos para diagnosticar y/o monitorizar un trastorno ocular) se pueden poner en práctica mediante cualquier proveedor cualificado de atención sanitaria.

5 La presente invención proporciona agentes terapéuticos y artículos de fabricación que abordan las preferencias de los oftalmólogos y los pacientes de evitar procedimientos asociados a un riesgo de complicaciones graves mientras el estado del ojo del paciente es relativamente estable y al mismo tiempo ofrecen los beneficios potenciales asociados a los agentes terapéuticos y/o formulaciones que pueden ser preferentes para la mejora, estabilización, y/o progreso reducido de la afección a largo plazo. En algunas realizaciones, la invención proporciona agentes para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular caracterizado por degeneración macular, CNV, o RNV que comprende la etapa de administrar el primer y el segundo agentes terapéuticos al ojo del sujeto en un procedimiento individual, en el que el primer agente terapéutico proporciona una mejora rápida en el estado del ojo del sujeto y del segundo agente terapéutico es un agente terapéutico de larga duración o se administra en forma de un componente de una formulación de liberación sostenida. El experto en la materia ha de entender que no todos los pacientes exhibirán una mejora en el estado del ojo. También ha de entender que el tiempo de respuesta (donde "respuesta" se refiere a la mejora en el estado del ojo) puede ser un tiempo medio de respuesta entre los pacientes que exhiben una respuesta. En algunas realizaciones de la invención, al menos un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, o 90 % de los pacientes exhiben una mejora rápida. En algunas realizaciones, la tasa de respuesta está entre un 10 % y un 100 %, o cualquier intervalo intermedio tal como entre un 30 % y un 80 %, etc., exhiben una mejora rápida.

De acuerdo con ciertas realizaciones de la invención se usa un procedimiento para administrar un primer agente terapéutico que proporciona una mejora rápida en el estado del ojo del paciente. El agente se puede administrar, por ejemplo, después de un empeoramiento repentino en el estado del ojo del paciente tal como puede ser causado por hemorragia o derrame de los vasos retinianos. En el curso del mismo procedimiento, también se administra un segundo agente terapéutico (que puede ser igual o diferente que el primer agente terapéutico) con poco o ningún riesgo adicional para el paciente. El segundo agente terapéutico es un agente de larga duración o es un componente de una formulación de liberación sostenida (o ambos). El segundo agente terapéutico puede proporcionar un beneficio a largo plazo al paciente, preferentemente prolongar el intervalo de tiempo antes de que el paciente experimente una desestabilización o perciba un empeoramiento significativo en el estado del ojo.

El primer y el segundo agentes terapéuticos se pueden administrar secuencialmente o se pueden administrar básicamente al mismo tiempo. Si se administran secuencialmente, se pueden administrar en cualquier orden. El orden se puede seleccionar basándose en la identidad y la formulación de los agentes. En ciertas realizaciones de la invención el primer y el segundo agentes terapéuticos se administran separados no más de 5, 10, 15, 30, o 45 segundos, o separados no más de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, o 30 minutos. En otras palabras, el intervalo de tiempo entre completar la administración del primer agente y completar la administración del segundo agente está separado no más de 5, 10, 15, 30, o 45 segundos o no más de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, o 30 minutos en diversas realizaciones de la invención. En ciertas realizaciones de la invención la administración del primer y el segundo agentes terapéuticos se completa en 5, 10, 15, 30, o 45 segundos o en 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, o 30 minutos desde el momento en el que cualquier cantidad de cualquiera del primer o el segundo agentes terapéuticos abandona los confines de cualquier instrumento o dispositivo médico o quirúrgico (por ejemplo, aguja, jeringa, trocar, catéter, cánula u otro dispositivo que pueda encerrar o contener una solución o formulación sólida tal como un implante y se pueda usar para introducir tal solución o formulación sólida en el ojo) y entra en contacto con los tejidos o los fluidos del ojo del sujeto.

Se dice que la administración es "completa" cuando la dosis completa del agente que se administra ha abandonado los confines de cualquier instrumento o dispositivo médico o quirúrgico que se use para introducir el agente terapéutico en el ojo del sujeto, entendiéndose que tal instrumento o dispositivo puede retener una cantidad residual del agente. El intervalo de tiempo que comienza desde el momento en el que cualquier cantidad de cualquiera del primer o el segundo agentes terapéuticos abandona los confines de cualquier instrumento o dispositivo médico o quirúrgico y entra en contacto con los tejidos o los fluidos del ojo del sujeto y el momento en el que la administración de tanto el primer como el segundo agentes terapéuticos es completa se denomina en el presente documento "ventana de tiempo" de la administración. Si se administran más de dos agentes terapéuticos, la ventana del tiempo de la administración es el intervalo de tiempo que comienza desde el momento en el que cualquier cantidad de cualquier agente terapéutico abandona los confines de cualquier instrumento o dispositivo médico o quirúrgico y entra en contacto con los tejidos o los fluidos del ojo del sujeto y el momento en el que la administración de todos los agentes terapéuticos es completa. Una ventana de tiempo corta de administración del primer y el segundo agentes terapéuticos es un rasgo adicional de las realizaciones de la invención. De ese modo, en el presente documento se desvela un método de tratamiento de un trastorno ocular caracterizado por degeneración macular, CNV, o RNV que comprende la etapa de administrar el primer y el segundo agentes terapéuticos al ojo del sujeto en una ventana de tiempo corta, en el que el primer agente terapéutico proporciona una mejora rápida en el estado del ojo del sujeto y el segundo agente terapéutico es un agente terapéutico de larga duración o se administra en forma de un componente de una formulación de liberación sostenida. En el método la ventana de tiempo puede ser no más de 5, 10, 15, 30 o 45 segundos o no más de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, o 30 minutos.

65

También se desvela en el presente documento un método de tratamiento de un trastorno ocular caracterizado por degeneración macular, CNV, RNV que comprende la etapa de administrar el primer y el segundo agentes terapéuticos al ojo del sujeto, en el que el primer agente terapéutico es un inhibidor de la angiogénesis y el segundo agente terapéutico es un agente terapéutico de larga duración o se administra en forma de un componente de una formulación de liberación sostenida. El segundo agente terapéutico puede ser, pero no necesariamente, un inhibidor del complemento. En ciertas realizaciones el segundo agente es un análogo de compstatina. Opcionalmente el primer y el segundo agentes terapéuticos se administran en un procedimiento individual.

También se desvela un método de tratamiento de un trastorno ocular caracterizado por degeneración macular, CNV, RNV que comprende la etapa de administrar el primer y el segundo agentes terapéuticos al ojo del sujeto, en el que el segundo agente terapéutico es un inhibidor del complemento que es un inhibidor del complemento de larga duración o se administra en forma de un componente de una formulación de liberación sostenida. El primer agente terapéutico puede ser, pero no necesariamente, un inhibidor de la angiogénesis. Opcionalmente el primer y el segundo agentes terapéuticos se administran en un procedimiento individual.

El agente terapéutico que proporciona una mejora rápida en el estado del ojo del paciente se puede administrar en medio líquido. En algunas realizaciones el agente se administra al menos en parte en una formulación que libera el agente a lo largo del tiempo en cantidades suficientes y lo suficientemente rápido para proporcionar una mejora rápida en el estado del ojo del sujeto. Por ejemplo, se podrían usar partículas que degraden o liberen de otro modo una cantidad eficaz del agente en las primeras 24, 48, 72, o 96 horas, en la primera semana, o en las primeras 2 semanas después de la administración. En algunas realizaciones se proporciona una primera parte del agente en solución y se proporciona una segunda parte en una formulación que proporciona liberación a lo largo del tiempo. Opcionalmente la segunda parte es un componente de la preparación de liberación sostenida del segundo agente.

Mediante la administración del primer y el segundo agentes terapéuticos en un procedimiento individual, ciertas realizaciones de la presente invención minimizan el riesgo global de complicaciones y hacen la administración del segundo agente terapéutico, que puede retrasar principalmente el progreso, inhibir el empeoramiento o desestabilización adicional, y/o proporcionar una mejora lenta en lugar de rápida en el estado del ojo del sujeto más aceptable para los oftalmólogos y/o los pacientes. El enfoque de terapia de combinación de la presente invención proporciona de ese modo una mejora inesperada e inapreciada en la relación de riesgo/beneficio asociada a la terapia invasiva de los trastornos oculares.

También se desvelan en el presente documento paquetes o kits y otros artículos de fabricación que facilitan la administración conveniente, eficaz, y segura de múltiples agentes terapéuticos al ojo usando un procedimiento individual.

En el presente documento se desvela un método de tratamiento de degeneración macular exudativa con una combinación de un fármaco antiangiogénico de larga duración y un fármaco inhibidor del complemento de larga duración o de liberación sostenida. El fármaco antiangiogénico de larga duración reduce el derrame y/o estimula la regresión de vasos sanguíneos recién formados en las semanas posteriores al tratamiento; el fármaco inhibidor del complemento de larga duración o de liberación lenta prevendrá la formación de nuevos vasos sanguíneos y estimulará la regresión de la enfermedad durante un período significativo de tiempo (meses o años dependiendo del dispositivo o formulación). De ese modo, ciertos métodos que se desvelan en el presente documento (1) inhiben/detienen la formación de vasos sanguíneos y/o derrame en pacientes con degeneración macular exudativa de forma aguda, de un modo tal que la retina esté más cercana en proximidad a la capa coroides del ojo, y que de ese modo se reduzca el daño isquémico a la retina, y (2) instalan un inhibidor del complemento de larga duración o de liberación lenta que disminuirá la respuesta inflamatoria en las capas de la retina/RPE/coroides del ojo y de ese modo bloqueará el estímulo primario de crecimiento de vasos sanguíneos y, opcionalmente, inhibirá además la formación de depósitos de drusas.

En ciertas realizaciones de cualquier aspecto de la invención, la administración del primer agente terapéutico no da como resultado una mejora rápida en el estado del ojo del sujeto. Sin embargo, la mejora tiene lugar de forma más gradual, por ejemplo, en 15 días a 3 semanas, en 15 días a 4 semanas, en 15 días a 5 semanas, o en 15 días a 6 semanas.

II. Agentes terapéuticos

Una diversidad de agentes terapéuticos diferentes son de uso en la presente invención. Además, la invención no está limitada a la administración de dos agentes terapéuticos. Por ejemplo, la invención puede comprender la administración de una composición que comprende uno o más agentes terapéuticos en solución en medio líquido, por ejemplo, un medio acuoso, y también administrar una composición que comprende o consiste básicamente en una formulación de liberación sostenida, por ejemplo, un implante ocular, que comprende uno o más agentes terapéuticos, en el curso del mismo procedimiento. De ese modo, ciertas realizaciones de la invención implican administrar al menos dos, tres, o cuatro agentes terapéuticos en una composición líquida y al menos dos, tres, o cuatro agentes terapéuticos en una preparación de liberación sostenida. Cualquiera de los agentes terapéuticos que se describen en el presente documento se puede incluir en cualquiera o ambas de la composición líquida y la

formulación de liberación sostenida. La formulación de liberación sostenida puede ser una composición líquida siempre que posea propiedades de liberación sostenida.

5 En ciertas realizaciones el agente terapéutico tiene un resto fijador de diana unido covalente o no covalentemente al mismo. El resto fijador de diana comprende un ligando que se une a un marcador presente sobre o en la superficie de una célula u otro componente diana tal como un constituyente de drusa presente en un sitio de actividad deseada. El término "ligando" se usa para referirse a un resto que se une específicamente a un segundo resto.

10 La cantidad total de cada agente terapéutico usado, y sus concentraciones, pueden variar. A modo de ejemplo, no limitante, las dosis están entre 0,0001 mg/dosis y 100 mg/dosis para cada ojo que se va a tratar, por ejemplo, entre 0,001 mg/dosis y 100 mg/dosis, entre 0,01 mg/dosis y 100 mg/dosis, entre 0,05 mg/dosis y 50 mg/dosis, entre 0,1 mg/dosis y 10 mg/dosis, entre 0,5 mg/dosis y 5 mg/dosis, entre 1 mg/dosis y 10 mg/dosis, etc. (siendo todas las dosis aproximadas). A modo de ejemplo, no limitante, las concentraciones de un agente terapéutico en una composición de la invención están entre aproximadamente 0,0001 mg y 100 mg del agente terapéutico por mililitro de solución, por ejemplo, la concentración puede estar entre 0,001 y 100 mg/ml, entre 0,01 y 50 mg/ml, entre 0,01 y 50 mg/ml, entre 0,1 y 10 mg/ml, etc., siendo todas las concentraciones aproximadas. En realizaciones específicas la dosis de cualquiera o ambos del primer o el segundo agentes terapéuticos es, sin limitación, exactamente o aproximadamente 0,1, 0,2, 0,25, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,75, 0,8, 0,9, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, o 5,0 mg o puede estar dentro de un intervalo delimitado por dos cualesquiera de los valores anteriores. Por ejemplo, en ciertas realizaciones una formulación de liberación sostenida, por ejemplo, un implante ocular, contiene exactamente o aproximadamente 0,1, 0,2, 0,25, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,75, 0,9, 0,9, 1,0, 2,0, 3,0,4,0, o 5,0 mg de un agente terapéutico o una cantidad que está dentro de un intervalo delimitado por dos cualesquiera de los valores anteriores. Si el agente terapéutico está ya aprobado o está en estudio para su uso en el trastorno, se puede usar una dosis convencional, donde "convencional" significa una dosis unitaria que anteriormente se ha mostrado que es eficaz y/o está aceptada en la técnica cuando se usa como agente individual. Por ejemplo, se pueden administrar 0,5 mg de Lucentis o 0,3 mg de Macugen. En otras realizaciones la dosis está entre 0,5 y 2 veces la dosis convencional.

25 Las siguientes secciones describen una diversidad de agentes terapéuticos de uso en la invención, pero la invención no se limita a estos agentes o clases de agentes o sus mecanismos de acción.

30 A. Inhibidores de la angiogénesis

Algunos inhibidores de la angiogénesis son agentes citotóxicos que dañan o eliminan las células diana (por ejemplo, células endoteliales) o desencadenan una respuesta mediada por inmunidad que da como resultado el daño o la eliminación de las células diana. Un segundo grupo incluye agentes que básicamente no dañan o eliminan las células endoteliales sino que en su lugar inhiben su proliferación, migración, formación de tubo capilar, diferenciación de células endoteliales a partir de los precursores de los mismos, u otros procesos asociados a la angiogénesis.

40 Se ha desarrollado una diversidad de inhibidores de la angiogénesis. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es uno de los reguladores clave de la angiogénesis. Otros reguladores incluyen factor 2 de crecimiento de fibroblastos, factor de crecimiento derivado de epitelio pigmentario (PEDF), angiopoyetinas, y moléculas de factores de crecimiento extracelulares (véase, por ejemplo, Ng, E. y Adamis, A., *Can. J. Ophthalmol.*, 40:352-68, 2005 para una discusión de los inhibidores de la angiogénesis y de las moléculas implicadas en la angiogénesis). Cualquiera de estos reguladores y/o las proteínas con las que interactúan puede ser una diana de un inhibidor de la angiogénesis. VEGF-A es un mitógeno de células endoteliales con la capacidad de estimular la angiogénesis *in vivo* (Leung DW, Cachianes G, Kuang W-J, Goeddel DV, Ferrara N, *Science*, 246:1306-1309, 1989). Otros miembros de la familia de VEGF incluyen VEGF-B, VEGF-C, y VEGF-D. VEGF-A estimula la proliferación y supervivencia de las células endoteliales así como la permeabilidad vascular (Ng, citado anteriormente, y referencias en el mismo). VEGF-A existe en varias isoformas diferentes que contienen 121, 145, 165, 189, y 208 aminoácidos (en los seres humanos), de las que VEGF₁₆₅ puede ser el principal responsable de la neovascularización ocular patológica. Existe una diversidad de receptores diferentes para VEGF, por ejemplo, VEGFR-1, VEGFR-2, y VEGPR-3.

50 Los agentes que inhiben la actividad y/o la expresión de VEGF, por ejemplo, VEGF-A, o uno o más receptores de VEGF se denominan en el presente documento "agentes anti-VEGF". Los agentes útiles de la invención incluyen anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, y ácidos nucleicos que se unen a una o más isoformas de VEGF o receptores de VEGF. La unión puede inhibir la interacción de una o más isoformas de VEGF con sus receptores. Macugen (Pfizer, Eyetech) es un ligando de ácido nucleico de VEGF (también denominado aptámero) que se une a e inhibe VEGF₁₆₅ (documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.051.698). Lucentis (Genentech) es un fragmento de anticuerpo humanizado que se une a e inhibe el factor A de crecimiento endotelial vascular (VEGF-A) (Gaudreault, J., *et al.*, *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 46, 726-733 (2005) y referencias en el mismo. Avastin (Genentech) es un anticuerpo humanizado de longitud completa que también se une a VEGF (revisado en Ferrara, N. *Endocr Rev.*, 25(4):581-611, 2004).

65 Otro inhibidor de la angiogénesis de uso en la invención es la Trampa de VEGF (Regeneron Pharmaceuticals), una proteína de fusión que contiene los dominios extracelulares de dos receptores de VEGF conectados a la región Fc de un anticuerpo (documento de Patente de Estados Unidos n.º 5.844.099).

En el presente documento se desvelan inhibidores de la angiogénesis que son agentes que inhiben la expresión de una o más moléculas proangiogénicas a través del proceso celular denominado interferencia de ARN (ARNi), también denominado "silenciamiento génico" (Novina, C.D. y Sharp, P.A. (2004) "The RNAi revolution", Nature, 430, 161-164.). Tales agentes se denominan en el presente documento agentes de ARNi e incluyen siARN y shARN. Por lo general, los agentes de ARNi son ácidos nucleicos que inducen una parte de doble cadena entre aproximadamente 17 y 29 nucleótidos, por ejemplo, 19-25, o 19 nucleótidos, de longitud, una cadena de la cual incluye una parte (la cadena "antisentido" o "guía") que es básica o perfectamente complementaria (por ejemplo, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %, o un 100 % complementaria) con un gen diana sobre aproximadamente 17-29 nucleótidos, por ejemplo, 19-25, o 19 nucleótidos. Opcionalmente el agente de ARNi incluye uno o más nucleótidos protuberantes 3' de cadena individual. La presencia de un agente de ARNi resulta por lo general en una degradación y/o represión traduccional específica de secuencia del ARNm diana codificado por el gen diana, inhibiendo de ese modo su expresión. Los agentes de ARNi y los métodos para su diseño y fabricación se conocen bien la técnica. Véanse, por ejemplo, Novina, citado anteriormente, y las referencias del mismo así como los documentos U.S.S.N. 09/821.832 (Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20020086356) y U.S.S.N. 10/832.248 (Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20040229266). Se ha de entender que los agentes de ARNi pueden consistir completamente en nucleótidos tales como los que se encuentran de forma natural en ARN y/o ARN o pueden comprender cualquiera de una amplia diversidad de análogos de nucleótido o pueden diferir de otras formas de la estructura del ARN y ADN de origen natural. Véanse, por ejemplo, los documentos de Publicación de Patente de Estados Unidos con números 20030175950, 20040192626, 20040092470, 20050020525, 20050032733.

En el presente documento se desvela un inhibidor de la angiogénesis que es un agente de ARNi, por ejemplo, un siARN, que inhibe la expresión de una o más isoformas de VEGF (por ejemplo, VEGF₁₆₅); o inhibe la expresión de un receptor de VEGF (por ejemplo, VEGFR1). El experto habitual en la materia podrá diseñar los agentes de ARNi apropiados basándose en las secuencias conocidas de estas moléculas (o cualquier otra molécula proangiogénica diana que incluye, pero no se limita a, angiogenina, angiopoyetina, factores de crecimiento de fibroblastos, PEDF, etc.), que están disponibles en bases de datos públicas, por ejemplo, GenBank.

El agente de ARNi, cuando se administra a las células, por ejemplo, células endoteliales, *in vitro* en una cantidad apropiada opcionalmente junto con compuestos de mejora de captación tales como lípidos, puede inhibir la expresión de su gen diana en al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %. El agente de ARNi, cuando se administra al ojo en una cantidad apropiada, puede inhibir la expresión de su gen diana en al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %, o más en al menos una estructura, tejido, o compartimento del ojo, por ejemplo, en la retina. Algunos agentes de ARNi a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, el siARN conocido como Cand5 (Acuity Pharmaceuticals), que inhibe la expresión de VEGF, Sirna-027 (Sirna Therapeutics), que inhibe la expresión de VEGFR-1, y los siARN que tienen una secuencia que difiere en 1, 2, o 3 posiciones de las de cualquiera de Cand5 o Siena-027. Se describen secuencias y estructuras adicionales de agentes de ARNi en los documentos U.S.S.N. 10/294.228 (Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20040018176), U.S.S.N. 10/764.957 (Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20050054596). Algunos ácidos nucleicos adicionales que inhiben la expresión de un gen diana incluyen oligonucleótidos antisentido y ribozimas (véase, por ejemplo, el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.818.447).

Otros inhibidores de la angiogénesis incluyen diversos péptidos endógenos o sintéticos tales como angiostatina, arresteno, canstatina, combstatina, endostatina, trombospondina, y tumstatina. Otras moléculas antiangiogénicas incluyen talidomida y sus derivados antiangiogénicos tales como los iMiD (Barnias A, Dimopoulos MA. Eur J Intern Med. 14(8):459-469, 2003; Bartlett JB, Dredge K, Dalglish AG. Nat Rev Cancer. 4(4):314-22,2004).

La administración de ciertos inhibidores de la angiogénesis, por ejemplo, agentes anti-VEGF tales como Avastin o Lucentis mediante inyección intravítrea da como resultado una mejora rápida en el estado del ojo de un paciente.

Aunque sin el deseo de quedar unidos a ninguna teoría, esta mejora rápida se puede producir al menos en parte debido a la disminución de derrame de los vasos y la reducción de edema macular. Estos efectos pueden ser, al menos a corto plazo (es decir, durante las primeras 1-2 semanas después del tratamiento), al menos tan significativos como cualquier inhibición del desarrollo o el crecimiento de vasos sanguíneos que se produzca durante este período de tiempo. Los agentes terapéuticos que reducen rápidamente el edema macular pueden ser de uso particular para causar una mejora rápida en el estado del ojo de un paciente. Dado que VEGF es un inductor de la permeabilidad vascular, los agentes anti-VEGF pueden ser especialmente eficaces para estos fines. La endostatina tienen la capacidad de reducir la permeabilidad vascular (véase, por ejemplo, Campochiaro, PA., Expert Opin Biol Ther., 4(9): 1395-402, 2004). En ciertas realizaciones de la invención se administran endostatina y un agente anti-VEGF, por ejemplo, un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, o aptámero que se une a VEGF o a un receptor de VEGF. Cualquiera o ambos agentes pueden estar contenidos en una composición líquida o una formulación de liberación sostenida.

B. Rutas del complemento e inhibidores del complemento

El sistema de complemento desempeña un papel crucial en una diversidad de procesos fisiológicos que incluyen la respuesta a lesiones y la defensa frente a entidades extrañas tales como agentes infecciosos. También se conoce

que el sistema de complemento desempeña un papel en una diversidad de enfermedades (Makrides, SC, Pharm Rev., 50(1): 59-87, 1998). El sistema de complemento comprende más de 30 proteínas séricas y celulares que están implicadas en dos rutas principales, conocidas como las rutas clásicas y alternativa (Kuby Immunology, 2000).

5 La ruta clásica se desencadena habitualmente por unión de un complejo de un antígeno y un anticuerpo IgM o IgG a C1 (aunque también pueden iniciar la ruta ciertos otros activadores). C1 activado escinde C4 y C2 para producir C4a y C4b, además de C2a y C2b. C4b y C2a se combinan para formar C3 convertasa, que escinde C3 para formar C3a y C3b. La unión de C3b a C3 convertasa produce C5 convertasa, que escinde C5 en C5a y C5b. C3a, C4a, y C5a son anafilotoxinas y median múltiples reacciones en la respuesta inflamatoria aguda. C3a y C5a también son factores quimiotácticos que atraen células del sistema inmunitario tales como neutrófilos. La actividad de C3 y C5 convertasa está controlada por una diversidad de miembros endógenos de la familia de los Reguladores de la Activación del Complemento (RCA), también denominada familia de Proteínas de Control del Complemento (CCP), que incluye el receptor del complemento de tipo 1 (CR1; receptor de C3b:C4b), el receptor del complemento de tipo 2 (CR2), la proteína cofactor de membrana (MCP; CD46), el factor acelerador del decaimiento (DAF), el factor H (fH), y la proteína de unión a C4b (C4bp). Las proteínas de RCA se describen en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.897.290.

La ruta alternativa se inicia mediante superficies microbianas y diversos polisacáridos complejos. En esta ruta, C3b, que resulta de la escisión de C3, que se produce de forma espontánea a bajo nivel, se une a dianas en las superficies celulares y forma un complejo con el factor B, que se escinde posteriormente mediante el factor D, dando como resultado una C3 convertasa. La escisión de C3 y la unión de otra molécula de C3b a la C3 convertasa da lugar a una C5 convertasa. Las C3 y C5 convertasas de esta ruta están reguladas por CR1, DAF, MCP, y fH. El modo de acción de estas proteínas implica actividad aceleradora del decaimiento (es decir, capacidad de disociar convertasas), capacidad de servir como cofactores en la degradación de C3b o C4b por parte del factor I, o ambas.

Las C5 convertasas producidas en ambas rutas escinden C5 para producir C5a y C5b. C5b se une a continuación a C6, C7, y C8 para formar C5b-8, que cataliza la polimerización de C9 para formar el complejo de ataque a membrana (MAC) C5b-9. El MAC se inserta en las membranas de las células diana y causa la lisis celular. Pequeñas cantidades de MAC en la membrana de las células pueden tener una diversidad de consecuencias distintas de la muerte celular.

Una tercera ruta del complemento, la ruta del complemento de la lectina, se inicia por unión de lectina de unión a manosa (MBL) y la serina proteasa asociada a MBL (MASP) a carbohidratos. En la ruta de la lectina humana, MASP-1 y MASP-2 están implicadas en la proteólisis de C4, C2 y C3, lo que conduce a una C3 convertasa descrita anteriormente.

La actividad del complemento está regulada por diversas proteínas de mamífero denominadas proteínas de control del complemento (CCP). Estas proteínas difieren con respecto a la especificidad de ligando y el mecanismo o mecanismos de inhibición del complemento (Liszewski, MK y Atkinson, JP, in *The Human Complement System in Health and Disease*, ed. Volanakis, JE y Frank, MM, Decker, Nueva York, pág. 149-66, 1998). Pueden acelerar el decaimiento normal de convertasas y/o funcionar como cofactores del factor I, para escindir enzimáticamente C3b y/o C4b en fragmentos menores. Las CCP se caracterizan por la presencia de múltiples (por lo general 4-56) motivos homólogos conocidos como repeticiones consenso cortas (SCR), módulos de proteína de control del complemento (CCP), o dominios SUSHI (Reid, KBM y Day, AJ, Immunol Today, 10:177-80, 1989). Estos dominios, que consisten en aproximadamente 50-70 aminoácidos, por lo general aproximadamente 60 aminoácidos, se caracterizan por un motivo conservado que incluye cuatro cisteínas unidas por disulfuro (dos enlaces disulfuro), prolina, triptófano, y numerosos restos hidrófobos. La figura 2 muestra una secuencia consenso SCR. Cualquier SCR particular puede diferir del consenso en una o más posiciones.

En la presente invención el segundo agente es un inhibidor del complemento seleccionado entre el grupo que consiste en un análogo de compstatina que tiene una actividad inhibidora del complemento al menos 5 veces mayor que la compstatina, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo monoclonal que se une a C3, y un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que se une a C5, factor B o factor D. Un inhibidor del complemento puede inhibir la activación del complemento, por ejemplo, inhibir la activación de una o más proteínas del complemento. Por ejemplo, puede inhibir la escisión de una proteína del complemento inactiva en su forma activa. Los inhibidores del complemento incluyen, pero no se limitan a, (i) proteínas de control del complemento o inhibidoras del complemento virales o de mamífero así como fragmentos o variantes de las mismas que retienen la capacidad de inhibir el complemento; (ii) compstatina y derivados de la misma; (3) y antagonistas de receptores del complemento. Las siguientes secciones describen inhibidores del complemento de uso en diversas realizaciones de la invención.

Compuestos que inhiben la activación o actividad de C3

En ciertas realizaciones de la invención el inhibidor del complemento inhibe la activación de C3. Algunos compuestos a modo de ejemplo incluyen compuestos que se unen a C3 e inhiben su escisión. El compuesto puede ser un análogo de compstatina. La compstatina es un péptido cíclico identificado usando presentación en fagos que se une al componente del complemento C3 e inhibe la activación del complemento. La compstatina inhibe la escisión

de C3 a C3a y C3b mediante convertasa. Dado que C3 es un componente principal de las tres rutas de activación del complemento, la compstatina y los análogos de la misma son capaces de inhibir la activación de la proteína convergente de las tres rutas. Sin el deseo de quedar unidos a ninguna teoría, la capacidad de la compstatina y de los análogos de la misma para inhibir la ruta alternativa de la activación del complemento puede contribuir considerablemente a su eficacia en ciertos de los trastornos que se describen en el presente documento.

La invención incluye el reconocimiento de que la compstatina y los análogos de la misma poseen ventajas únicas e inesperadas en comparación con ciertos otros inhibidores del complemento, particularmente para la liberación sostenida, en una diversidad de trastornos oculares. El peso molecular relativamente bajo (~1,6 kD) y diversas otras propiedades de los análogos de compstatina facilitan su incorporación a las formulaciones y los dispositivos de suministro sostenido adecuados para proporcionar concentraciones terapéuticas al ojo. En ciertas realizaciones se suministra un análogo de compstatina de forma sostenida durante un período prolongado de tiempo tal como 1-2 semanas, 2-4 semanas, 1-3 meses, 3-6 meses, 6-12 meses, 1-2 años, 2-5 años, o 5-10 años.

La compstatina se describe en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.319.897. La compstatina tiene una secuencia Ile-[Cys-Val-Val-Gln-Asp-Trp-Gly-His-His-Arg-Cys]-Thr (SEQ ID NO: 8), indicándose el enlace disulfuro entre las dos cisteínas mediante corchetes. Hay una región cíclica N-terminal de un péptido mayor (SEQ ID NO: 1 en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.319.897) que también muestra actividad inhibidora del complemento. Se han identificado una diversidad de fragmentos y variantes de compstatina que inhiben el complemento. Véanse, por ejemplo, las SEQ ID NO: 13, 15, 20, 21, y 22 del documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.319.897.

Se ha sintetizado una diversidad de análogos de compstatina que tienen una actividad inhibidora del complemento mayor que la compstatina. Véanse el documento de Patente WO2004/026328 (PCT/US2003/029653), Morikis, D., *et al.*, *Biochem Soc Trans.* 32(Pt 1):28-32, 2004, Mallik, B., *et al.*, *J. Med. Chem.*, 274-286, 2005, y/o en Katragadda, M., *et al.* *J. Med. Chem.*, 49: 4616-4622, 2006. En la presente invención se pueden usar los péptidos y peptidomiméticos inhibidores del complemento que se describen en los mismos.

Como se usa en el presente documento, la expresión "análogo de compstatina" incluye la compstatina y cualquier análogo inhibidor del complemento de la misma y se usa de forma intercambiable con "derivado de compstatina". La expresión "análogo de compstatina" incluye la compstatina y otros compuestos diseñados o identificados basándose en la compstatina y cuya actividad inhibidora del complemento es al menos un 50 % mayor que la de la compstatina según se mide, por ejemplo, usando cualquier ensayo de activación del complemento aceptado en la técnica o ensayos básicamente similares o equivalentes. Se describen ciertos análogos de compstatina y ensayos adecuados en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.319.897, el documento de Patente WO2004/026328, Morikis, citado anteriormente, Mallik, citado anteriormente, y/o Katragadda 2006, citado anteriormente. El ensayo puede medir, por ejemplo, la lisis de eritrocitos mediada por la ruta alternativa o puede ser un ensayo de ELISA (véanse los Ejemplos 5 y 6 de las solicitudes de Patente pendientes de publicación USSN 11/544.389 y PCT/US06/39397). La invención incluye realizaciones en las que se usan uno cualquiera o más de los análogos de compstatina o las composiciones que se describen en el presente documento. En la invención se usa un péptido que tiene una actividad inhibidora del complemento al menos 5 veces mayor que la compstatina, preferentemente una actividad al menos 10 veces mayor, etc.

La compstatina y cualquiera de sus análogos pueden estar acetilados o amidados, por ejemplo, en los extremos N-terminal y/o C-terminal. Por ejemplo, la compstatina y cualquiera de sus análogos pueden estar acetilados en el extremo N-terminal y amidados en el extremo C-terminal. De forma consistente con el uso en la técnica, "compstatina", como se usa en el presente documento, y las actividades de los análogos de compstatina que se describen en el presente documento con respecto a las de la compstatina, se refieren a compstatina amidada en el extremo C-terminal (Mallik, 2005, citado anteriormente).

Los concatámeros o multímeros de un análogo de compstatina de la misma también son de uso en la presente invención. Un complejo supramolecular que comprende un análogo de compstatina es de uso en la invención.

La actividad de un análogo de compstatina se puede expresar en términos de su valor de CI_{50} (la concentración del compuesto que inhibe la actividad del complemento en un 50 %), por ejemplo, en una concentración en plasma particular, indicando un valor inferior de CI_{50} una mayor actividad como se reconoce en la técnica.

Se conocen ciertas modificaciones para reducir o eliminar la actividad inhibidora del complemento y se pueden excluir de forma explícita de cualquier realización de la invención. Se ha informado que el valor de CI_{50} de la compstatina es 12 μ M usando un ensayo de actividad del complemento que comprende la medición de un ensayo de lisis de eritrocitos mediada por la ruta alternativa (documento de Patente WO2004/026328). En ciertas realizaciones de la invención la actividad del análogo de compstatina es entre 10 y 50 veces mayor que la de la compstatina, o entre 50 y 99 veces mayor que la de la compstatina. En ciertas realizaciones de la invención la actividad del análogo de compstatina es entre 99 y 264 veces la de la compstatina. Por ejemplo, la actividad puede ser 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, o 264 veces mayor que la de la compstatina. En ciertas realizaciones la actividad es entre 264 y 300, 300 y 350, 350 y 400, o 400 y 500 veces

mayor que la de la compstatina. La invención contempla además análogos de compstatina que tienen actividades entre 500 y 1000 veces mayor que la de la compstatina.

Se ha informado que la K_d de la unión de la compstatina a C3 es 1,3 μM usando calorimetría de valoración isotérmica (Katragadda, *et al.*, J. Biol. Chem., 279(53), 54987-54995, 2004). Se ha correlacionado la afinidad de unión de una diversidad de análogos de compstatina por C3 con su actividad, indicando un menor valor de K_d una mayor afinidad de unión, como se reconoce en la técnica. Se ha mostrado una correlación lineal entre la afinidad de unión y la actividad para ciertos análogos sometidos a ensayo (Katragadda, 2004, citado anteriormente; Katragadda 2006, citado anteriormente). En ciertas realizaciones de la invención el análogo de compstatina se une a C3 con una K_d entre 0,05 μM y 0,1 μM , entre 0,025 μM y 0,05 μM , entre 0,015 μM y 0,025 μM , entre 0,01 μM y 0,015 μM , o entre 0,001 μM y 0,01 μM . En ciertas realizaciones el valor de CI_{50} del análogo de compstatina está entre aproximadamente 0,1 μM y aproximadamente 0,2 μM . En ciertas realizaciones el valor de CI_{50} del análogo de compstatina está entre aproximadamente 0,05 μM y aproximadamente 0,1 μM . En ciertas realizaciones el valor de CI_{50} del análogo de compstatina está entre aproximadamente 0,001 μM y aproximadamente 0,05 μM .

Los compuestos "diseñados e identificados basándose en la compstatina" incluyen, pero no se limitan a, compuestos que comprenden una cadena de aminoácidos cuya secuencia se obtiene mediante (i) modificación de la secuencia de la compstatina (por ejemplo, reemplazando uno o más aminoácidos de la secuencia de la compstatina con un aminoácido o análogo de aminoácido diferente, insertando uno o más aminoácidos o análogos de aminoácido en la secuencia de la compstatina, o suprimiendo uno o más aminoácidos de la secuencia de la compstatina); (ii) selección de una librería de péptidos de presentación en fagos en la que se varían aleatoriamente uno o más aminoácidos de la compstatina, y además se modifica opcionalmente de acuerdo con el método (i); o (iii) identificación por análisis sistemático de compuestos que compiten con la compstatina o cualquier análogo de la misma obtenido mediante los métodos (i) o (ii) por la unión a C3 o un fragmento del mismo. Numerosos análogos de compstatina útiles comprenden una agrupación hidrófoba, un giro β , y un puente disulfuro.

En ciertas realizaciones de la invención la secuencia del análogo de compstatina comprende o consiste básicamente en una secuencia que se obtiene haciendo 1, 2, 3, o 4 sustituciones en la secuencia de la compstatina, es decir, se reemplazan 1, 2, 3, o 4 aminoácidos de la secuencia de la compstatina por un aminoácido convencional diferente o por un aminoácido no convencional. En ciertas realizaciones de la invención se altera el aminoácido de la posición 4.

En ciertas realizaciones de la invención se altera el aminoácido de la posición 9. En ciertas realizaciones de la invención se alteran los aminoácidos de las posiciones 4 y 9. En ciertas realizaciones de la invención solo se alteran los aminoácidos de las posiciones 4 y 9. En ciertas realizaciones de la invención se altera el aminoácido de la posición 4 o 9, o en ciertas realizaciones se alteran los aminoácidos tanto 4 como 9, y además se alteran hasta 2 aminoácidos situados en posiciones seleccionadas entre 1, 7, 10, 11, y 13. En ciertas realizaciones de la invención se alteran los aminoácidos de las posiciones 4, 7, y 9. En ciertas realizaciones de la invención se alteran los aminoácidos de las posiciones 2, 12, o ambos, con la condición de que la alteración conserve la capacidad del compuesto para ciclarse. Tal alteración o alteraciones de las posiciones 2 y/o 12 pueden ser además de la alteración o alteraciones de las posiciones 1, 4, 7, 9, 10, 11, y/o 13. Opcionalmente la secuencia de cualquiera de los análogos de compstatina cuya secuencia se obtenga por reemplazo de uno o más aminoácidos de la secuencia de compstatina incluye además hasta 1, 2, o 3 aminoácidos adicionales en el extremo C-terminal. En una realización, el aminoácido adicional es Gly. Opcionalmente la secuencia de cualquiera de los análogos de compstatina cuya secuencia se obtenga por reemplazo de uno o más aminoácidos de la secuencia de compstatina incluye además hasta 5, o hasta 10 aminoácidos adicionales en el extremo C-terminal. Se debería entender que los análogos de compstatina pueden tener una o más de las características o los rasgos de las diversas realizaciones que se describen en el presente documento, y las características o los rasgos de cualquier realización pueden caracterizar además cualquier otra realización que se describe en el presente documento, a menos que se indique de otro modo o sea evidente a partir del contexto. En ciertas realizaciones de la invención la secuencia del análogo de compstatina comprende o consiste básicamente en una secuencia que se muestra en la parte superior de la figura 7, en la que X4 y X9 representan cadenas laterales modificables.

Ciertos análogos de compstatina que tienen una actividad algo mayor que la compstatina contienen solo aminoácidos convencionales (los "aminoácidos convencionales" son glicina, leucina, isoleucina, valina, alanina, fenilalanina, tirosina, triptófano, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, cisteína, metionina, arginina, lisina, prolina, serina, treonina e histidina). Ciertos análogos de compstatina que tienen una actividad mejorada incorporan uno o más aminoácidos no convencionales. Los aminoácidos no convencionales útiles incluyen aminoácidos halogenados (por ejemplo, fluorados) individualmente o múltiples veces, D-aminoácidos, homoaminoácidos, N-alquil aminoácidos, deshidroaminoácidos, aminoácidos aromáticos (distintos de fenilalanina, tirosina y triptófano), ácido orto, meta o para-aminobenzoico, fosfoaminoácidos, aminoácidos metoxilados, y aminoácidos α,α -disustituidos. En ciertas realizaciones de la invención, se diseña un análogo de compstatina reemplazando uno o más L-aminoácidos de un análogo de compstatina descrito en otra parte en el presente documento por el correspondiente D-aminoácido.

Algunos aminoácidos no convencionales a modo de ejemplo de uso incluyen 2-naftilalanina (2-Nal), 1-naftilalanina (1-Nal), ácido 2-indanilglicina carboxílico (2Igl1), dihidrotriptófano (Dht), 4-benzoil-L-fenilalanina (Bpa), ácido 2- α -

aminobutírico (2-Abu), ácido 3- α -aminobutírico (3-Abu), ácido 4- α -aminobutírico (4-Abu), ciclohexilalanina (Cha), homociclohexilalanina (hCha), 4-fluoro-L-triptófano (4fW), 5-fluoro-L-triptófano (5fW), 6-fluoro-L-triptófano (6fW), 4-hidroxi-L-triptófano (4OH-W), 5-hidroxi-L-triptófano (5OH-W), 6-hidroxi-L-triptófano (6OH-W), 1-metil-L-triptófano (1MeW), 4-metil-L-triptófano (4MeW), 5-metil-L-triptófano (5MeW), 7-aza-L-triptófano (7aW), α -metil-L-triptófano (α MeW), β -metil-L-triptófano (β MeW), N-metil-L-triptófano (NMeW), ornitina (orn), citrulina, norleucina, ácido γ -glutámico, etc.

En ciertas realizaciones de la invención el análogo de compstatina comprende uno o más análogos de Trp (por ejemplo, en la posición 4 y/o 7 con respecto a la secuencia de la compstatina). Se han mencionado anteriormente análogos de Trp a modo de ejemplo. Véanse también Beene, *et al.* Biochemistry 41: 10262-10269, 2002 (que describe, entre otros, análogos de Trp halogenados individualmente y de forma múltiple); Babitzke y Yanofsky, J. Biol. Chem. 270: 12452-12456, 1995 (que describe, entre otros, análogos de Trp metilados y halogenados y otros análogos de Trp e indol); y los documentos de Patente de Estados Unidos con números 6.214.790, 6.169.057, 5.776.970, 4.870.097, 4.576.750 y 4.299.838. Otros análogos de Trp incluyen variantes sustituidas (por ejemplo, con un grupo metilo) en un carbono α o β y, opcionalmente, también en una o más posiciones del anillo de indol. Los aminoácidos que comprenden dos o más anillos aromáticos, incluyendo las variantes sustituidas, sin sustituir, o sustituidas de forma alternativa de los mismos, también son de interés como análogos de Trp.

En ciertas realizaciones el análogo de Trp tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp. Por ejemplo, el anillo de indol puede estar sustituido con uno o más grupos alquilo (por ejemplo, metilo). En ciertas realizaciones el análogo de Trp participa en una interacción hidrófoba con C3. Tal análogo de Trp puede estar situado, por ejemplo, en la posición 4 con respecto a la secuencia de la compstatina. En ciertas realizaciones el análogo de Trp comprende un componente de anillo aromático bicíclico sustituido o sin sustituir o dos o más componentes de anillo aromático monocíclicos sustituidos o sin sustituir.

En ciertas realizaciones el análogo de Trp tiene una propensión aumentada a formar enlaces de hidrógeno con C3 con respecto al Trp pero no tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp. El análogo de Trp puede tener una polaridad aumentada con respecto al Trp y/o una capacidad aumentada para participar en una interacción electrostática con un donador de enlace de hidrógeno en C3. Ciertos análogos de Trp a modo de ejemplo con un carácter formador de puentes de hidrógeno aumentado comprenden un sustituyente electronegativo en el anillo de indol. Tal análogo de Trp se puede situar, por ejemplo, en la posición 7 con respecto a la secuencia de la compstatina.

En ciertas realizaciones de la invención el análogo de compstatina comprende uno o más análogos de Ala (por ejemplo, en la posición 9 con respecto a la secuencia de la compstatina), por ejemplo, análogos de Ala que son idénticos a la Ala excepto en que incluyen uno o más grupos CH_2 en la cadena lateral. En ciertas realizaciones el análogo de Ala es un aminoácido sin ramificar con un solo metilo tal como 2-Abu. En ciertas realizaciones de la invención el análogo de compstatina comprende uno o más análogos de Trp (por ejemplo, en la posición 4 y/o 7 con respecto a la secuencia de la compstatina) y un análogo de Ala (por ejemplo, en la posición 9 con respecto a la secuencia de la compstatina).

En ciertas realizaciones de la invención el análogo de compstatina es un compuesto que comprende un partido que tiene una secuencia de $(\text{X}'\text{aa})_n\text{-Gln-Asp-Xaa-Gly-(X''aa)}_m$, (SEQ ID NO: 2) en la que cada $\text{X}'\text{aa}$ y cada X''aa es un aminoácido o análogo de aminoácido seleccionado independientemente, en la que Xaa es Trp o un análogo de Trp, y en la que $n > 1$ y $m > 1$ y $n + m$ está entre 5 y 21. El péptido tiene una secuencia principal de Gln - Asp - Xaa - Gly, donde Xaa es Trp o un análogo de Trp, por ejemplo, un análogo de Trp tiene una propensión aumentada a formar enlaces de hidrógeno con un donador de enlace de H con respecto al Trp pero, en ciertas realizaciones, no tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp. Por ejemplo, el análogo puede ser uno en el que el anillo de indol del Trp está sustituido con un resto electronegativo, por ejemplo, un halógeno tal como flúor. En una realización Xaa es 5-fluorotriptófano. A falta de evidencias que demuestren lo contrario, el experto en la materia reconocerá que cualquier péptido de origen no natural cuya secuencia comprenda esta secuencia principal y que inhiba la activación del complemento y/o se una a C3 se habrá diseñado basándose en la secuencia de la compstatina. En una realización alternativa Xaa es un aminoácido o análogo de aminoácido distinto de un análogo de Trp que permite que el péptido Gln - Asp - Xaa - Gly forme un giro β .

En ciertas realizaciones de la invención el péptido tiene una secuencia principal de $\text{X}'\text{aa-Gln-Asp-Xaa-Gly}$ (SEQ ID NO: 3), donde $\text{X}'\text{aa}$ y Xaa se seleccionan entre Trp y análogos de Trp. En ciertas realizaciones de la invención el péptido tiene una secuencia principal de $\text{X}'\text{aa-Gln-Asp-Xaa-Gly}$ (SEQ ID NO: 3), donde $\text{X}'\text{aa}$ y Xaa se seleccionan entre Trp, análogos de Trp, y otros aminoácidos o análogos de aminoácido que comprenden al menos un anillo aromático. En ciertas realizaciones de la invención la secuencia principal forma un giro β en el contexto del péptido. El giro β puede ser flexible, permitiendo que el péptido asuma dos o más conformaciones que se evalúan, por ejemplo, usando resonancia magnética nuclear (RMN). En ciertas realizaciones $\text{X}'\text{aa}$ es un análogo de Trp que comprende un componente de anillo aromático bicíclico sustituido o sin sustituir o dos o más componentes de anillo aromático monocíclicos sustituidos o sin sustituir. En ciertas realizaciones de la invención $\text{X}'\text{aa}$ se selecciona entre el grupo que consiste en 2-naftilalanina, 1-naftilalanina, ácido 2-indanilglicina carboxílico, dihidrotriptófano, y benzoilfenilalanina. En ciertas realizaciones de la invención $\text{X}'\text{aa}$ es un análogo de Trp que tiene un carácter

hidrófobo aumentado con respecto al Trp. Por ejemplo, X'aa puede ser 1-metilriptófano. En ciertas realizaciones de la invención Xaa es un análogo de Trp que tiene una propensión aumentada a formar enlaces de hidrógeno con respecto al Trp pero, en ciertas realizaciones, no tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp. En ciertas realizaciones de la invención el análogo de Trp que tiene una propensión aumentada a formar enlaces de hidrógeno con respecto al Trp comprende una modificación en el anillo de indol del Trp, por ejemplo, en la posición 5, tal como una sustitución de un átomo de halógeno por un átomo de H en la posición 5. Por ejemplo, Xaa puede ser 5-fluorotriptófano.

En ciertas realizaciones de la invención el péptido tiene una secuencia principal de X'aa-Gln - Asp - Xaa - Gly-X''aa (SEQ ID NO: 4), donde X'aa y Xaa se seleccionan cada uno independientemente entre Trp y análogos de Trp y X''aa se selecciona entre His, Ala, análogos de Ala, Phe, y Trp. En ciertas realizaciones de la invención X'aa es un análogo de Trp que tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp, tal como 1-metilriptófano o otro análogo de Trp que tenga un sustituyente alquilo en el anillo de indol (por ejemplo, en la posición 1, 4, 5, o 6). En ciertas realizaciones X'aa es un análogo de Trp que comprende un componente de anillo aromático bicíclico sustituido o sin sustituir o dos o más componentes de anillo aromático monocíclicos sustituidos o sin sustituir. En ciertas realizaciones de la invención X'aa se selecciona entre el grupo que consiste en 2-naftilalanina, 1-naftilalanina, ácido 2-indanilglicina carboxílico, dihidroriptófano, y benzoilfenilalanina. En ciertas realizaciones de la invención Xaa es un análogo de Trp que tiene una propensión aumentada a formar enlaces de hidrógeno con C3 con respecto al Trp pero, en ciertas realizaciones, no tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp. En ciertas realizaciones de la invención el análogo de Trp que tiene una propensión aumentada a formar enlaces de hidrógeno con respecto al Trp comprende una modificación en el anillo de indol del Trp, por ejemplo, en la posición 5, tal como una sustitución de un átomo de halógeno por un átomo de H en la posición 5. Por ejemplo, Xaa puede ser 5-fluorotriptófano. En ciertas realizaciones X''aa es Ala o un análogo de Ala tal como Abu o otro aminoácido sin ramificar con un solo metilo. En ciertas realizaciones de la invención el péptido tiene una secuencia principal de X'aa-Gln - Asp - Xaa - Gly-X''aa (SEQ ID NO: 4), donde X'aa y Xaa se seleccionan cada uno independientemente entre Trp, análogos de Trp, y aminoácidos o análogos de aminoácido que comprenden al menos una cadena lateral aromática, y X''aa se selecciona entre His, Ala, análogos de Ala, Phe, y Trp. En ciertas realizaciones X''aa se selecciona entre análogos de Trp, aminoácidos aromáticos, y análogos de aminoácidos aromáticos.

En ciertas realizaciones preferentes de la invención el péptido es cíclico. El péptido se puede ciclar a través de un enlace entre dos aminoácidos cualesquiera, uno de los cuales es (X'aa)_n y el otro de los cuales está situado en (X''aa)_m. En ciertas realizaciones la parte cíclica del péptido tiene una longitud entre 9 y 15 aminoácidos, por ejemplo, 10-12 aminoácidos de longitud. En ciertas realizaciones la parte cíclica del péptido tiene 11 aminoácidos de longitud, con un enlace (por ejemplo, un enlace disulfuro) entre los aminoácidos en las posiciones 2 y 12. Por ejemplo, el péptido puede tener 13 aminoácidos de longitud, con un enlace entre los aminoácidos en las posiciones 2 y 12 dando como resultado una parte cíclica de 11 aminoácidos de longitud.

En ciertas realizaciones el péptido comprende o consiste en la secuencia X'aa1 - X'aa2 - X'aa3 - X'aa4 -Gln-Asp-Xaa-Gly X''aa1- X''aa2- X''aa3- X''aa4- X''aa5 (SEQ ID NO: 5). En ciertas realizaciones X'aa4 y Xaa se seleccionan entre Trp y análogos de Trp, y X'aa1, X'aa2, X'aa3, X''aa1, X''aa2, X''aa3, X''aa4, y X''aa5 se seleccionan independientemente entre aminoácidos y análogos de aminoácido. En ciertas realizaciones X'aa4 y Xaa se seleccionan entre aminoácidos aromáticos y análogos de aminoácidos aromáticos. Uno cualquiera o más de X'aa1, X'aa2, X'aa3, X''aa1, X''aa2, X''aa3, X''aa4, y X''aa5 pueden ser idénticos al aminoácido de la posición correspondiente en la compstatina. En una realización, X''aa1 es Ala o un aminoácido sin ramificar con un solo metilo. El péptido puede se puede ciclar a través de un enlace covalente entre (i) X'aa1, X'aa2, o X'aa3; y (ii) X''aa2, X''aa3, X''aa4 o X''aa5. En una realización el péptido se cicla a través de un enlace covalente entre X'aa2 y X''aa4. En una realización los aminoácidos unidos covalentemente son cada Cys y el enlace covalente es un enlace disulfuro (S-S). En otras realizaciones en enlace covalente es un enlace C-C, C-O, C-S, o C-N. En ciertas realizaciones uno de los restos unido covalentemente es un aminoácido o un análogo de aminoácido que tiene una cadena lateral que comprende una amina primaria o secundaria, el otro resto unido covalentemente es un aminoácido o un análogo de aminoácido que tiene una cadena lateral que comprende un grupo ácido carboxílico, y el enlace covalente es un enlace amida. Los aminoácidos o análogos de aminoácido que tienen una cadena lateral que comprende una amina primaria o secundaria incluyen lisina y ácidos diaminocarboxílicos de estructura general NH₂(CH₂)_nCH(NH₂)COOH tales como ácido 2,3-diaminopropiónico (dapa), ácido 2,4-diaminobutírico (daba), y ornitina (orn), en los que n = 1 (dapa), 2 (daba), y 3 (orn), respectivamente. Algunos ejemplos de aminoácidos que tienen una cadena lateral que comprende un grupo ácido carboxílico incluyen aminoácidos dicarboxílicos tales como ácido glutámico y ácido aspártico. También se pueden usar análogos tales como ácido beta-hidroxi-L-glutámico.

En ciertas realizaciones, el análogo de compstatina es un compuesto que comprende un péptido que tiene una secuencia:

Xaa1 - Cys - Val- Xaa2 - Gln - Asp - Xaa2* - Gly - Xaa3 - His - Arg - Cys - Xaa4 (SEQ ID NO: 6); en la que:

Xaa1 es Ile, Val, Leu, B¹-Ile, B¹-Val, B¹-Leu o un dipéptido que comprende Gly-Ile o B¹-Gly-Ile, y B¹ representa un primer resto bloqueante;

Xaa2 y Xaa2* se seleccionan independientemente entre Trp y análogos de Trp;

Xaa3 es His, Ala o un análogo de Ala, Phe, Trp, o un análogo de Trp;

Xaa4 es L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, un dipéptido seleccionado entre Thr-Ala y Thr-Asn, o un tripéptido que comprende Thr-Ala-Asn, en los que un -OH carboxilo terminal de cualquiera de L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, Ala, o Asn está reemplazado opcionalmente por un segundo resto bloqueante B²; y los dos restos Cys están unidos mediante un enlace disulfuro.

En otras realizaciones Xaa1 está ausente o es cualquier aminoácido o análogo de aminoácido, y Xaa2, Xaa2*, Xaa3, y Xaa4 son como se han definido anteriormente. Si Xaa1 está ausente, el resto de Cys N-terminal puede tener un resto bloqueante B¹ unido al mismo.

En otra realización, Xaa4 es cualquier aminoácido o análogo de aminoácido y Xaa1, Xaa2, Xaa2*, y Xaa3 son como se han definido anteriormente. En otra realización Xaa4 es un dipéptido seleccionado entre el grupo que consiste en: Thr-Ala y Thr-Asn, en los que el -OH carboxilo terminal o la Ala o Asn están opcionalmente reemplazados por un segundo resto bloqueante B².

En cualquiera de las realizaciones del análogo de compstatina de SEQ ID NO: 6, Xaa2 puede ser Trp.

En cualquiera de las realizaciones del análogo de compstatina de SEQ ID NO: 6, Xaa2 puede ser un análogo de Trp que comprende un componente de anillo aromático bicíclico sustituido o sin sustituir o dos o más componentes de anillo aromático monocíclicos sustituidos o sin sustituir. Por ejemplo, el análogo de Trp se puede seleccionar entre 2-naftilalanina (2-Nal), 1-naftilalanina (1-Nal), ácido 2-indanilglicina carboxílico (Ig1), dihidrotriptófano (Dht), y 4-benzoil-L-fenilalanina.

En cualquiera de las realizaciones del análogo de compstatina de SEQ ID NO: 6, Xaa2 puede ser un análogo de Trp que tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp. Por ejemplo, el análogo de Trp se puede seleccionar entre 1-metiltriptófano, 4-metiltriptófano, 5-metiltriptófano, y 6-metiltriptófano. En una realización, el análogo de Trp es 1-metiltriptófano. En una realización, Xaa2 es 1-metiltriptófano, Xaa2* es Trp, Xaa3 es Ala, y los demás aminoácidos son idénticos a los de la compstatina.

En cualquiera de las realizaciones del análogo de compstatina de SEQ ID NO: 6, Xaa2* puede ser un análogo de Trp tal como un análogo de Trp que tiene una propensión aumentada a formar enlaces de hidrógeno con C3 con respecto al Trp, que, en ciertas realizaciones, no tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp. En ciertas realizaciones el análogo de Trp comprende un sustituyente electronegativo en el anillo de indol. Por ejemplo, el análogo de Trp se puede seleccionar entre 5-fluorotriptófano y 6-fluorotriptófano.

En ciertas realizaciones de la invención Xaa2 es Trp y Xaa2* es un análogo de Trp que tiene una propensión aumentada a formar enlaces de hidrógeno con C3 con respecto al Trp que, en ciertas realizaciones, no tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp. En ciertas realizaciones del análogo de compstatina de SEQ ID NO: 6, Xaa2 es un análogo de Trp que tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp tal como un análogo de Trp seleccionado entre 1-metiltriptófano, 4-metiltriptófano, 5-metiltriptófano, y 6-metiltriptófano, y Xaa2* es un análogo de Trp que tiene una propensión aumentada a formar enlaces de hidrógeno con C3 con respecto al Trp que, en ciertas realizaciones, no tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp. Por ejemplo, en una realización Xaa2 es metiltriptófano y Xaa2* es 5-fluorotriptófano.

En ciertas de las realizaciones mencionadas anteriormente, Xaa3 es Ala. En ciertas de las realizaciones mencionadas anteriormente Xaa3 es un aminoácido sin ramificar con un solo metilo, por ejemplo, Abu.

En ciertas realizaciones la invención emplea un análogo de compstatina de SEQ ID NO: 6, como se ha descrito anteriormente, en la que Xaa2 y Xaa2* se seleccionan independientemente entre Trp, análogos de Trp, y otros aminoácidos o análogos de aminoácido que comprenden al menos un anillo aromático, y Xaa3 es His, Ala o un análogo de Ala, Phe, Trp, un análogo de Trp, u otro aminoácido aromático o análogo de aminoácido aromático.

En ciertas realizaciones de la invención el resto bloqueante presente en los extremos N- y C-terminal de cualquiera de los análogos de compstatina que se describen en el presente documento es cualquier resto que establezca un péptido frente a la degradación que se podría producir de otro modo en la sangre o el humor arbitrio de un mamífero (por ejemplo, un ser humano o un primate no humano). Por ejemplo, el resto bloqueante B¹ podría ser cualquier resto que altere la estructura del extremo N-terminal de un péptido de un modo tal que inhiba la escisión de un enlace peptídico entre el aminoácido N-terminal del péptido y el aminoácido adyacente. El resto bloqueante B² podría ser cualquier resto que altere la estructura del extremo C-terminal de un péptido de un modo tal que inhiba la escisión de un enlace peptídico entre el aminoácido C-terminal del péptido y el aminoácido adyacente. Se podría usar cualquier resto bloqueante adecuado conocido en la técnica. En ciertas realizaciones de la invención el resto bloqueante B¹ comprende un grupo acilo (es decir, la parte de un ácido carboxílico que permanece después de la retirada del grupo -OH). El grupo acilo comprende por lo general entre 1 y 12 carbonos, por ejemplo, entre 1 y 6 carbonos. Por ejemplo, en ciertas realizaciones de la invención el resto bloqueante B¹ se selecciona entre el grupo que consiste en: formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, valerilo, isovalerilo, etc. En una realización, el resto bloqueante B¹ es un grupo acetilo, es decir, Xaa1 es Ac-Ile, Ac-Val, Ac-Leu, o Ac-Gly-Ile.

En ciertas realizaciones de la invención el resto bloqueante B² es una amina primaria o secundaria (-NH₂ o -NHR¹, en la que R es un resto orgánico tal como un grupo alquilo).

5 En ciertas realizaciones de la invención el resto bloqueante B¹ es cualquier resto que neutralice o reduzca la carga negativa que de otro modo puede estar presente en el extremo N-terminal a pH fisiológico. En ciertas realizaciones de la invención del resto bloqueante B² es cualquier resto que neutralice o reduzca la carga negativa que de otro modo puede estar presente en el extremo C-terminal a pH fisiológico.

10 En ciertas realizaciones de la invención, el análogo de compstatina esta acetilado o amidado en los extremos N-terminal y/o C-terminal, respectivamente. Un análogo de compstatina puede estar acetilado en el extremo N-terminal, amidado en el extremo C-terminal, o tanto acetilado en el extremo N-terminal como amidado en el extremo C-terminal. En ciertas realizaciones de la invención un análogo de compstatina comprende un grupo alquilo o arilo en el extremo N-terminal en lugar de un grupo acetilo.

15 En ciertas realizaciones, el análogo de compstatina es un compuesto que comprende un péptido que tiene una secuencia:

Xaa1 - Cys - Val - Xaa2 - Gln - Asp - Xaa2* - Gly - Xaa3 - His - Arg - Cys - Xaa4 (SEQ ID NO: 7); en la que:

20 Xaa1 es Ile, Val, Leu, Ac-Ile, Ac-Val, Ac-Leu o un dipéptido que comprende Gly-Ile o Ac-Gly-Ile;
 Xaa2 y Xaa2* se seleccionan independientemente entre Trp y análogos de Trp;
 Xaa3 es His, Ala o un análogo de Ala, Phe, Trp, o un análogo de Trp;
 Xaa4 es L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, un dipéptido seleccionado entre Thr-Ala y Thr-Asn, o un tripéptido que
 25 comprende Thr-Ala-Asn, en el que un -OH carboxilo terminal de cualquiera de L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, Ala, o Asn está reemplazado opcionalmente con -NH₂; y
 los dos restos de Cys están unidos mediante un enlace disulfuro.

30 Xaa1, Xaa2, Xaa2*, Xaa3, y Xaa4 son como se han descrito anteriormente para las diversas realizaciones de SEQ ID NO: 6. Por ejemplo, en ciertas realizaciones Xaa2* es Trp. En ciertas realizaciones Xaa2 es un análogo de Trp que tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto al Trp, por ejemplo, 1-metiltriptófano. En ciertas realizaciones Xaa3 es Ala. En ciertas realizaciones Xaa3 es un aminoácido sin ramificar con un solo metilo.

En ciertas realizaciones de la invención Xaa1 es Ile y Xaa4 es L-Thr.

35 En ciertas realizaciones de la invención Xaa1 es Ile, Xaa2* es Trp, y Xaa4 es L-Thr.

40 En ciertas realizaciones la invención utiliza un análogo de compstatina de SEQ ID NO: 7, como se ha descrito anteriormente, en la que Xaa2 y Xaa2* se seleccionan independientemente entre Trp, análogos de Trp, otros aminoácidos o análogos de aminoácidos aromáticos, y
 Xaa3 es His, Ala o un análogo de Ala, Phe, Trp, un análogo de Trp, u otro aminoácido aromático o análogo de aminoácido aromático.

45 En ciertas realizaciones de cualquiera de los análogos de compstatina que se describen en el presente documento, Xaa3 es un análogo de His.

50 La Tabla 1 proporciona una lista no limitante de análogos de compstatina útiles en la presente invención (excluyendo Ac-compstatina). Los análogos se denominan en forma abreviada en la columna izquierda indicando las modificaciones específicas en las posiciones designadas (1-13) en comparación con el péptido precursor, compstatina (amidado en el extremo C-terminal). A menos que se indique otra cosa, los péptidos están amidados en el extremo C-terminal. El texto en negrita se usa para indicar ciertas modificaciones. La actividad con respecto a la compstatina (en este caso compstatina amidada en el extremo C-terminal) se basa en datos publicados y los análisis que se describen en los mismos (documento de Patente WO2004/026326, Mallik, 2005; Katragadda, 2006). Cuando se consultaron múltiples publicaciones que informan de la actividad, se usa el valor publicado más recientemente, y se ha de reconocer que los valores se pueden ajustar en el caso de diferencias entre los ensayos. También se ha de
 55 entender que los péptidos que se enumeran en la Tabla 1 están ciclados a través de un enlace disulfuro entre los dos restos de Cys cuando se usan en la invención.

Tabla 1

<u>Péptido</u>	<u>Secuencia</u>	<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Actividad con respecto a la compstatina</u>
Compstatina	H-ICVVQDWGHRCT-CONH ₂	8	*
Ac-compstatina	Ac-ICVVQDWGHRCT-CONH ₂	9	3 veces más
Ac-V4Y/H9A	Ac-ICVYQDWG A HRCT-CONH ₂	10	14 veces más

<u>Péptido</u>	<u>Secuencia</u>	<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Actividad con respecto a la compstatina</u>
Ac-V4W/H9A-OH	Ac-ICV <u>W</u> QDWG <u>A</u> HRCT-COOH	11	27 veces más
Ac-V4W/H9A	Ac-ICV <u>W</u> QDWG <u>A</u> HRCT-CONH ₂	12	45 veces más
Ac-V4W/H9A/T13dT-OH	Ac-ICV <u>W</u> QDWG <u>A</u> HRC <u>dT</u> -COOH	13	55 veces más
Ac-V4(2-Nal)/H9A	Ac-ICV(<u>2-Nal</u>)QDWG <u>A</u> HRCT-CONH ₂	14	99 veces más
Ac V4(2-Nal)/H9A-OH	Ac-ICV(<u>2-Nal</u>)QD7WG <u>A</u> HRCT-COOH	15	38 veces más
Ac V4(1-Nal)/H9A -OH	Ac-ICV(<u>1-Nal</u>)QDWG <u>A</u> HRCT-COOH	16	30 veces más
Ac-V42Igl/H9A	Ac-ICV(<u>2-Igl</u>)QDWG <u>A</u> HRCT-CONH ₂	17	39 veces más
Ac-V42Igl/H9A-OH	Ac-ICV(<u>2-Igl</u>)QDWG <u>A</u> HRCT-COOH	18	37 veces más
Ac-V4Dht/H9A -OH	Ac-ICV <u>Dht</u> QDWG <u>A</u> HRCT-COOH	19	5 veces más
Ac-V4(Bpa)/H9A -OH	Ac-ICV(<u>Bpa</u>)QDW <u>A</u> HRCT-COOH	20	49 veces más
Ac-V4(Bpa)/H9A	Ac-ICV(<u>Bpa</u>)QDWG <u>A</u> HCT-CONH ₂	21	86 veces más
Ac-V4(Bta)/H9A -OH	Ac-ICV(<u>Bta</u>)QDWG <u>A</u> HRCT-COOH	22	65 veces más
Ac-V4(Bta)/H9A	Ac-ICV(<u>Bta</u>)QDWG <u>A</u> HRCT-CONH ₂	23	64 veces más
Ac-V4W/H9(2-Abu)	Ac-ICV <u>W</u> QDWG(2- <u>Abu</u>)HRCT-CONH ₂	24	64 veces más
+G/V4W/H9A +AN -OH	H- <u>G</u> ICV <u>W</u> QDWG <u>A</u> HRCTAN-COOH	25	38 veces más
Ac-V4(5fW)/H9A	Ac-ICV(<u>5fW</u>)QDWG <u>A</u> HRCT- CONH ₂	26	31 veces más
Ac-V4(5-MeW)/H9A	Ac-ICV(<u>5-metil-W</u>)QDWG <u>A</u> HRCT-CONH ₂	27	67 veces más
Ac-V4(1-MeW)/H9A	Ac-ICV(<u>1-metil-W</u>)QDWG <u>A</u> HRCT-CONH ₂	28	264 veces más
Ac-V4W/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV <u>W</u> QD(<u>5fW</u>) <u>G</u> AHRCT-CONH ₂	29	121 veces más
Ac-V4(5fW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(<u>5fW</u>)QD(<u>5fW</u>) <u>G</u> AHRCT- CONH ₂	30	NA
Ac-V4(5-MeW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(<u>5-metil-W</u>)QD(<u>5fW</u>) <u>G</u> AHRCT-CONH ₂	31	NA
Ac-V4(1MeW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(<u>1-metil-W</u>)QD(<u>5fW</u>) <u>G</u> AHRCT-CONH ₂	32	264 veces más

NA = no disponible

- 5 En ciertas realizaciones de la invención el análogo de compstatina tiene una secuencia seleccionada entre las secuencias 10-32. En ciertas realizaciones de la invención el análogo de compstatina tiene una secuencia seleccionada entre las SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, y 32. En ciertas realizaciones de la invención el análogo de compstatina tiene una secuencia seleccionada entre las SEQ ID NO: 30 y 31. En una realización de la invención el análogo de compstatina tiene una secuencia de SEQ ID NO: 28. En una realización de la invención el análogo de compstatina tiene una secuencia de SEQ ID NO: 32.
- 10 En otras realizaciones, se usan los análogos de compstatina que tienen las secuencias que se exponen en la Tabla 1, pero donde el grupo Ac se reemplaza con un resto bloqueante B¹ alternativo, como se ha descrito anteriormente. En otras realizaciones, se usan los análogos de compstatina que tienen las secuencias que se exponen en la Tabla 1, pero donde el grupo -NH₂ se reemplaza con un resto bloqueante B² alternativo, como se ha descrito anteriormente.
- 15 En una realización, el análogo de compstatina se une básicamente a la misma región de la cadena β del C3 humano que la compstatina. En una realización el análogo de compstatina es un compuesto que se une a un fragmento de la parte C-terminal de la cadena β del C3 humano que tiene un peso molecular de aproximadamente 40 kDa al que se une la compstatina (Soulíka, A.M., *et al.*, Mol. Immunol., 35:160, 1998; Soulíka, A.M., *et al.*, Mol. Immunol. 43(12):2023-9, 2006). En ciertas realizaciones el análogo de compstatina es un compuesto que se une al sitio de unión de la compstatina según se determina en una estructura compstatina-C3, por ejemplo, una estructura cristalina o una estructura 3D derivada de RMN. En ciertas realizaciones el análogo de compstatina es un compuesto que podría sustituir a la compstatina en una estructura compstatina-C3 y podría formar básicamente los mismos contactos intermoleculares con C3 que la compstatina. En ciertas realizaciones el análogo de compstatina es un compuesto que se une al sitio de unión de un péptido que tiene una secuencia expuesta en la Tabla 1, por ejemplo,
- 20

- 5 SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, o 32 en una estructura péptido-C3, por ejemplo, una estructura cristalina. En ciertas realizaciones el análogo de compstatina es un compuesto que se une al sitio de unión de un péptido que tiene SEQ ID NO: 30 o 31 en una estructura péptido-C3, por ejemplo, una estructura cristalina. En ciertas realizaciones el análogo de compstatina es un compuesto que podría sustituir a un péptido de SEQ ID NO: 9-32, por ejemplo, SEQ ID NO: 14, 21, 28, o 32 en una estructura péptido-C3 y podría formar básicamente los mismos contactos intermoleculares con C3 que el péptido. En ciertas realizaciones el análogo de compstatina es un compuesto que podría sustituir a un péptido de SEQ ID NO: 30 o 31 en una estructura péptido-C3 y podría formar básicamente los mismos contactos intermoleculares con C3 que el péptido.
- 10 El experto habitual en la materia será capaz de terminar fácilmente si un análogo de compstatina se une a un fragmento de la parte C-terminal de la cadena β de C3 usando métodos experimentales de rutina. Por ejemplo, el experto en la materia podría sintetizar una versión fotorreticulable del análogo de compstatina incluyendo un aminoácido de fotorreticulación tal como *p*-benzoil-L-fenilalanina (Bpa) en el compuesto, por ejemplo, en el extremo C-terminal de la secuencia (Soulika, A.M., *et al.*, citado anteriormente). Opcionalmente se podrían incluir aminoácidos adicionales, por ejemplo, una marca de epítipo tal como una marca FLAG o una marca HA para facilitar la detección del compuesto, por ejemplo, mediante transferencia Western. El análogo de compstatina se incubaba con el fragmento y se inicia la reticulación. La localización conjunta del análogo de compstatina y el fragmento de C3 indica la unión. También se puede usar resonancia por plasmones superficiales para determinar si un análogo de compstatina se une al sitio de unión de la compstatina en C3 o un fragmento del mismo. El experto en la materia podría usar programas de software de modelización molecular para predecir si un compuesto formaría básicamente los mismos contactos intermoleculares con C3 que la compstatina o un péptido que tenga la secuencia de cualquiera de los péptidos de la Tabla 1, por ejemplo, SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, o 32, o en otras realizaciones SEQ ID NO: 30 o 31.
- 15 Los análogos de compstatina se pueden preparar mediante diversos métodos sintéticos de síntesis de péptidos conocidos en la técnica a través de la condensación de restos de aminoácido, por ejemplo, de acuerdo con los métodos convencionales de síntesis de péptidos, se pueden preparar por expresión *in vitro* o en células vivas a partir de secuencias de ácidos nucleicos apropiadas que los codifican usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los péptidos se pueden sintetizar usando las metodologías convencionales en fase sólida que se describen en Malik, citado anteriormente, Katragadda, citado anteriormente, y/o el documento de Patente WO2004026328. Se pueden proteger restos potencialmente reactivos tales como grupos amino y carboxilo, grupos funcionales reactivos, etc., y desproteger posteriormente usando diversos grupos protectores y metodologías conocidos en la técnica.
- 20 Véase, por ejemplo, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3ª ed. Greene, T. W. y Wuts, P. G., Eds., John Wiley & Sons, Nueva York: 1999. Los péptidos se pueden purificar usando enfoques convencionales tales como HPLC en fase inversa. La separación de péptidos diastereoméricos se puede llevar a cabo, si se desea, usando métodos conocidos tales como HPLC en fase inversa. Si se desea, las preparaciones se pueden liofilizar y posteriormente disolver en un disolvente adecuado, por ejemplo, agua. El pH de la solución resultante se puede ajustar, por ejemplo a pH fisiológico, usando una base tal como NaOH. Si se desea, las preparaciones de los péptidos se pueden caracterizar mediante espectrometría de masas, por ejemplo, para confirmar la masa y/o la formación de enlaces disulfuro. Véanse, por ejemplo, Mallik, 2005, y Katragadda, 2006.
- 25 La estructura de la compstatina se conoce en la técnica, y también se conocen las estructuras de RMN de una diversidad de análogos de compstatina que tienen mayor actividad que la compstatina (Malik, citado anteriormente). La información estructural se puede usar para diseñar miméticos de compstatina. En una realización, el mimético de compstatina es cualquier compuesto que compite con la compstatina o cualquier análogo de compstatina (por ejemplo, un análogo de compstatina cuya secuencia se expone en la Tabla 1) por la unión a C3 o un fragmento del mismo (tal como un fragmento de 40 kD de la cadena β al que se une la compstatina) y que tiene una actividad igual o mayor que la de la compstatina. El mimético de compstatina puede ser un péptido, ácido nucleico, o molécula pequeña. En ciertas realizaciones el mimético de compstatina es un compuesto que se une al sitio de unión de la compstatina según se determina en una estructura compstatina-C3, por ejemplo, una estructura cristalina o una estructura 3D obtenida a partir de experimentos de RMN. En ciertas realizaciones el mimético de compstatina es un compuesto que podría sustituir a la compstatina en una estructura compstatina-C3 y formaría básicamente los mismos contactos intermoleculares con C3 que la compstatina. En realizaciones el mimético de compstatina es un compuesto que se une al sitio de unión de un péptido que tiene una secuencia expuesta en la Tabla 1, por ejemplo, SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, o 32, o en ciertas realizaciones SEQ ID NO: 30 o 31, en una estructura péptido-C3. En ciertas realizaciones el mimético de compstatina es un compuesto que podría sustituir a un péptido que tiene una secuencia expuesta en la Tabla 1, por ejemplo, SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, o 32, o en ciertas realizaciones SEQ ID NO: 30 o 31, en una estructura péptido-C3 y formaría básicamente los mismos contactos intermoleculares con C3 que el péptido. En ciertas realizaciones el mimético de compstatina tiene una cadena principal no peptídica pero tiene cadenas laterales dispuestas en una secuencia diseñada basándose en la secuencia de la compstatina.
- 30 El experto en la materia ha de entender que una vez se ha determinado una conformación deseada particular de un péptido corto, se conocen bien los métodos para diseñar un péptido o un peptidomimético que se ajuste a esa conformación. Véase, por ejemplo, G.R. Marshall (1993), Tetrahedron, 49: 3547-3558; Hruby y Nikiforovich (1991), en Molecular Conformation and Biological Interactions, P. Balaram & S. Ramasehan, ed., Indian Acad. of Sci.,

Bangalore, PP. 429-455), Eguchi M, Kahn M., Mini Rev Med Chem., 2(5):447-62, 2002. De relevancia particular para la presente invención, el diseño de análogos de péptidos se puede refinar además considerando la contribución de las diversas cadenas laterales de los restos de aminoácido, por ejemplo, al efecto de grupos funcionales o a consideraciones estéricas como se describe en la técnica para la compstatina y los análogos de la misma, entre otros.

Los expertos en la materia han de entender que un mimético de un péptido puede servir igualmente bien que un péptido para el fin de proporcionar la conformación de cadena principal específica y las funcionalidades de las cadenas laterales requeridas para la unión a C3 y la inhibición de la activación del complemento. Por lo tanto, se contempla que está dentro del alcance de la presente invención producir y utilizar compuestos de inhibición del complemento y unión a C3 mediante el uso de aminoácidos de origen natural, derivados de aminoácidos, análogos o moléculas que no son aminoácidos capaces de unirse para formar la conformación de cadena principal apropiada.

Un análogo no peptídico, o un análogo que comprende componentes peptídicos y no peptídicos, se denomina en ocasiones en el presente documento "peptidomimético" o "mimético isostérico", para designar las sustituciones o derivaciones de un péptido que poseen muchos de los rasgos conformacionales de la cadena principal y/u otras funcionalidades, de un modo tal que sea suficientemente similar a los péptidos mostrados a modo de ejemplo para inhibir la activación del complemento. Más generalmente, un mimético de compstatina es cualquier compuesto que situaría farmacóforos de forma similar a su situación en la compstatina, incluso si difiriera la cadena principal.

El uso de peptidomiméticos para el desarrollo de análogos peptídicos de alta afinidad se conoce en la técnica. Suponiendo restricciones rotacionales similares a las de los restos de aminoácido de un péptido, se pueden analizar análogos que comprenden restos que no son aminoácidos, y verificar sus motivos conformacionales, por medio del gráfico de Ramachandran (Hruby y Nikiforovich 1991), entre otras técnicas conocidas. Se pueden usar métodos virtuales de análisis sistemático para identificar miméticos de compstatina que se unan a C3. Tales métodos pueden comprender el uso de algoritmos adecuados para acoplar computacionalmente, calificar, y opcionalmente clasificar una pluralidad de estructuras candidatas. Se puede usar cualquiera de una amplia diversidad de programas de software disponibles para llevar a cabo el método virtual de análisis sistemático. Algunos programas a modo de ejemplo útiles para acoplamiento molecular flexible incluyen DOCK 4.0, FlexX 1.8, AutoDock 3.0, GOLD 1.2, ICM 2.8, y versiones más recientes de los mismos.

El experto en la materia podrá establecer fácilmente ensayos de análisis sistemático adecuados para identificar miméticos de compstatina adicionales y para seleccionar los que tengan las actividades inhibitorias deseadas. Por ejemplo, se podría marcar la compstatina o un análogo de la misma (por ejemplo, con una marca radioactiva o fluorescente) y poner en contacto con C3 en presencia de diferentes concentraciones de un compuesto de ensayo.

Se evalúa la capacidad de un compuesto de ensayo para disminuir la unión del análogo de compstatina a C3. Un compuesto de ensayo que disminuya considerablemente la unión del análogo de compstatina a C3 es un mimético de compstatina candidato. Por ejemplo, un compuesto de ensayo que disminuya la concentración en estado estacionario de un complejo análogo de compstatina-C3, o que disminuya la velocidad de formación de un complejo análogo de compstatina-C3 en al menos un 25 %, o en al menos un 50 %, es un candidato a mimético de compstatina. El experto en la materia ha de entender que se puede emplear una diversidad de variaciones de este ensayo de análisis sistemático. Los compuestos que se analizan sistemáticamente incluyen productos naturales, librerías de aptámeros, librerías de presentación en fagos, librerías de compuestos sintetizados usando química combinatoria, etc. La invención incluye sintetizar una librería combinatoria de compuestos basándose en la secuencia principal descrita anteriormente y analizar sistemáticamente la librería para identificar miméticos de compstatina. Cualquiera de estos métodos también se podría usar para identificar nuevos análogos de compstatina que tengan una actividad inhibitoria mayor que los análogos de compstatina sometidos a ensayo de ese modo hasta la fecha.

Los anticuerpos monoclonales que se unen a los receptores de C3 o C3a (C3aR) son de uso en la invención. El documento de Patente de Estados Unidos n.º 5.942.405 desvela antagonistas de C3aR. Se pueden identificar aptámeros que se unen a e inhiben el factor B usando métodos tales como SELEX (discutido posteriormente). El documento de Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20030191084 desvela aptámeros que se unen a C1q, C3 y C5.

Compuestos que inhiben la activación o la actividad del factor B

Los anticuerpos y los fragmentos de anticuerpo que se unen al factor B son de uso en la invención. Algunos anticuerpos a modo de ejemplo que inhiben el factor B se describen en el documento de Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20050260198. En ciertas realizaciones el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno aislado se une selectivamente al factor B en el tercer dominio de repetición consenso corta (SCR). En ciertas realizaciones el anticuerpo evita la formación de un complejo C3bBb. En ciertas realizaciones el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno evita o inhibe la escisión del factor B en factor D. En ciertas realizaciones el inhibidor del complemento es un anticuerpo que se une básicamente al mismo sitio de unión en el factor B que un anticuerpo descrito en el documento de Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20050260198.

Compuestos que inhiben la actividad del factor D

Los anticuerpos y los fragmentos de anticuerpo que se unen al factor D son de uso en la invención. Algunos anticuerpos a modo de ejemplo que inhiben el factor D se describen en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 7.112.327. En ciertas realizaciones el anticuerpo se une básicamente al mismo sitio de unión en el factor B que un anticuerpo descrito en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 7.112.327. Algunos polipéptidos a modo de ejemplo que inhiben la activación de la ruta alternativa y se cree que inhiben el factor D se desvelan en el documento de Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20040038869.

10 *Proteínas virales de control del complemento (VCCP) y proteínas virales inhibitoras del complemento (VCIP)*

Los poxvirus y herpesvirus son familias de virus grandes y complejos con un genoma de ADN bicatenario lineal, algunos de los cuales infectan animales y pueden causar una diversidad de enfermedades, la más temida de las cuales en seres humanos es la viruela. Ciertos de estos virus codifican una diversidad de proteínas inmunomoduladoras que se cree que desempeñan un papel en la patogénesis al trastornar uno o más aspectos de la respuesta inmune normal y/o desarrollar el acogimiento de un entorno más favorable en el organismo hospedador (Kotwal, GJ, *Immunology Today*, 21(5), 242-248, 2000). Las VCCP se encuentran entre estas proteínas. Las proteínas de control del complemento de poxvirus son miembros de la superfamilia de proteínas de control del complemento (CCP) y contienen por lo general 4 módulos SCR. Estas proteínas poseen características que las hacen particularmente ventajosas para el tratamiento y la prevención de afecciones relacionadas con degeneración macular y para el tratamiento y la prevención de neovascularización coroidal. Los agentes se describen en el documento de Patente U.S.S.N. 60/616.983, presentado el 8 de octubre de 2004, en el documento de Patente US 2006/0142191, presentado el 8 de octubre de 2005, titulado VIRAL COMPLEMENT CONTROL PROTEINS FOR EYE DISORDERS, y/o en el documento de Patente U.S.S.N. 60/751.771, y el documento de Patente US 2008/0075755, presentados el 19 de diciembre de 2005, y el 19 de diciembre de 2006, respectivamente, titulados VIRAL COMPLEMENT CONTROL PROTEINS FOR EYE DISORDERS CHARACTERIZED BY INFLAMMATION.

Una proteína de control del complemento de poxvirus (PVCCP) puede comprender una secuencia codificada, por ejemplo, por virus vacuna, virus de la viruela mayor, virus de la viruela menor, virus de la viruela bovina, virus de la viruela de los monos, virus ectromelia, virus de la viruela de los conejos, virus mixoma, virus de enfermedad de tipo Yaba, o virus de la viruela porcina. Una proteína de control del complemento de herpesvirus (HVCCP) puede comprender una secuencia codificada por radinovirus de *Macaca fuscata*, herpesvirus 17 de cercopitecinos, o virus del herpes 8 humano. La HVCCP puede comprender una secuencia codificada por virus del herpes simple saimiri ORF 4 u ORF 15 (Albrecht, JC. y Fleckenstein, B., *J. Virol.*, 66, 3937-3940, 1992; Albrecht, J., *et al.*, *Virology*, 190, 527-530, 1992).

La VCCP puede inhibir la ruta clásica del complemento, la ruta alternativa del complemento, la ruta de la lectina, o cualquier combinación de estas. La VCCP, por ejemplo, una PVCCP, puede unirse a C3b, C4b, o ambos. La PVCCP puede comprender uno o más sitios putativos de unión a heparina (K/R-X-K/R) y/o poseer una carga positiva global. Preferentemente la PVCCP comprende al menos 3 módulos SCR (por ejemplo, 1-3 módulos), preferentemente 4 módulos SCR. La proteína PVCCP puede ser un precursor de una PVCCP madura (es decir, puede incluir una secuencia de señal que normalmente se retira por escisión cuando la proteína se expresa en células infectadas por virus) o puede ser una forma madura (es decir, que carece de la secuencia de señal).

La proteína de control del complemento de vacuna (VCP) es una proteína codificada por virus segregada a partir las infectadas con vacuna. VCP tiene 244 aminoácidos de longitud, contiene 4 SCR, y se produce de forma natural por escisión intracelular de un precursor de 263 aminoácidos. VCP migra como una proteína de -35 kD en un gel de SDS al 12 %/poliacrilamida en condiciones reductoras y tiene una masa molecular predicha de aproximadamente 28,6 kD. VCP se describe en los documentos de Patente de Estados Unidos con números 5.157.110 y 6.140.472, y en Kotwal, GK, *et al.*, *Nature*, 355, 176-178, 1988. Las figuras 3A y 3B muestran la secuencia del precursor y las proteínas VCP maduras, respectivamente. Se ha mostrado que VCP inhibe la ruta clásica de activación del complemento a través de su capacidad de unirse a C3 y C4 y actuar como cofactor para la escisión mediada por factor I de estos componentes así como estimular el decaimiento de la convertasa existente (Kotwal, GK, *et al.*, *Science*, 250, 827-830, 1990; McKenzie *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1566, 1245-1250, 1992). También se ha mostrado que inhibe la ruta alternativa causando la escisión de C3b en iC3b y previniendo de ese modo la formación de la C3 convertasa de la ruta alternativa (Sahu, A, *et al.*, *J. Immunol.*, 160, 5596-5604, 1998). VCP bloquea de ese modo la activación del complemento en múltiples etapas y reduce los niveles de factores C3a, C4a, y C5a proinflamatorios y quimiotácticos.

VCP también posee la capacidad de unirse fuertemente a heparina además de a proteoglicanos de heparán sulfato. VCP contiene dos sitios putativos de unión a heparina situados en los módulos 1 y 4 (Jha, P y Kotwal, GJ, y las referencias en el mismo). VCP es capaz de unirse a la superficie de las células endoteliales, posiblemente a través de la interacción con heparina y/o heparán sulfato en la superficie de las células, dando como resultado una disminución de la unión de anticuerpo (Smith, SA, *et al.*, *J. Virol.*, 74(12), 5659-5666, 2000). VCP se puede recoger en los mastocitos y posiblemente persistir en el tejido durante períodos prolongados de tiempo, prolongando de ese modo potencialmente su actividad (Kotwal, GJ, *et al.*, In GP. Talwat, *et al.* (eds), 10º Congreso Internacional de

Inmunología, Monduzzi Editore, Bologna, Italia, 1998). Además, VCP puede reducir la migración quimiotáctica de leucocitos mediante el bloqueo de unión a quimioquinas (Reynolds, D, *et al.*, en S. Jameel y L. Villareal (ed., *Advances in animal virology*. Oxford & IBN Publishing, Nueva Delhi, India, 1999).

5 Los virus de la viruela mayor y menor codifican proteínas que son altamente homólogas con VCP y se denominan inhibidor de viruela de enzimas del complemento (SPICE) (Rosengard, AM, *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci., 99(13), 8803-8813, documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.551.595). El SPICE de diversas cepas de viruela secuenciadas hasta la fecha difiere de VCP en aproximadamente un 5 % (por ejemplo, difiere en aproximadamente 11 aminoácidos). De forma similar a VCP, SPICE se une a C3b y C4b y causa su degradación, actuando como
10 cofactor para el factor I. Sin embargo, SPICE degrada a C3b aproximadamente 100 veces más rápido que VCP y degrada C4b aproximadamente seis veces más rápido que VCP. La secuencia de aminoácidos de SPICE se presenta en la figura 6 y se puede describir como sigue a continuación. Por referencia a la figura 6, una señal de secuencia se prolonga desde el aminoácido 1 hasta aproximadamente el aminoácido 19. Cuatro SCR se prolongan desde aproximadamente el aminoácido 20 hasta el aminoácido 263. Cada SCR se caracteriza por cuatro restos de
15 cisteína. Los cuatro restos de cisteína forman dos enlaces disulfuro en la proteína expresada. Los límites de cada SCR se definen de la mejor forma mediante el primer y el cuarto restos de cisteína de la secuencia que forma los enlaces disulfuro en la SCR. Un resto de triptófano invariante está presente entre la cisteína 3 y la cisteína 4 de cada SCR. SCR1 se prolonga desde el aminoácido 20 o 21 hasta el aminoácido 81. Ambos restos son cisteínas que pueden estar implicadas en un enlace disulfuro. SCR2 se prolonga desde el aminoácido 86 hasta el aminoácido 143. SCR3 se prolonga desde el aminoácido 148 hasta el aminoácido 201. SCR4 se prolonga desde el aminoácido 206 hasta el aminoácido 261. Las SCR incluyen ubicaciones de unión a complemento de SPICE. El SPICE o cualquiera de las partes del mismo que inhiben la activación del complemento, por ejemplo, SPICE y polipéptidos relacionados con SPICE que contienen cuatro SCR, tales como los que se describen en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.551.595, son de uso en la presente invención.

25 También se han identificado y secuenciado proteínas de control del complemento de virus de la viruela bovina (denominada proteína moduladora de inflamación, IMP) y de virus de la viruela de los monos (denominada en el presente documento proteína de control de complemento de virus de la viruela de los monos, MCP) (Miller, CG, *et al.*, *Virology*, 229, 126-133, 1997 y Uvarova, EA y Shchelkunov, SN, *Virus Res.*, 81(1-2), 39-45, 2001). MCP difiere de las demás PVCCP que se describen en el presente documento en que contiene un truncamiento en la parte C-terminal del cuarto SCR.

30 Se ha de entender que la secuencia exacta de las proteínas de control del complemento identificadas en diferentes aislados de virus pueden diferir ligeramente.

35 Se pueden usar proteínas de control del complemento de cualquiera de tales aislados, con la condición de que las proteínas no hayan experimentado una mutación que elimine básicamente su actividad. De ese modo, la secuencia de una VCCP tal como SPICE o VCP puede diferir de las secuencias exactas presentadas en el presente documento o en los números de registro enumerados en la Tabla 1. También se ha de entender que se puede
40 realizar una diversidad de alteraciones de aminoácidos, por ejemplo, adiciones, supresiones, o sustituciones tales como sustituciones conservativas de aminoácidos, en un polipéptido habitual tal como una VCCP sin que afecte significativamente a su actividad, de un modo tal que la proteína resultante se considera equivalente a la proteína original. Por ejemplo, se pueden cambiar con frecuencia hasta aproximadamente un 10 % de los aminoácidos, o
45 hasta aproximadamente un 20 % de los aminoácidos sin alterar significativamente la actividad. Además, por supuesto, los dominios conocidos por tener funciones similares se pueden sustituir entre sí. Tales dominios se pueden encontrar en un polipéptido individual (por ejemplo, dominios repetidos) o en polipéptidos homólogos diferentes. El efecto de cualquier alteración de aminoácidos o sustitución de dominios particular se puede determinar fácilmente.

50 La figura 4 muestra una alineación de secuencia de una diversidad de proteínas de control del complemento de poxvirus de aislados de viruela mayor y menor, vacuna, virus de la viruela bovina, y virus de la viruela de los monos. La figura 5 muestra una comparación de la estructura del dominio SCR de una diversidad de proteínas de control del complemento y fragmentos de las mismas, el número de restos K+R, % de restos K+R, pl, número de sitios putativos de unión a heparina, y capacidad para inhibir la hemólisis (indicativo de actividad inhibidora del complemento) y/o
55 unirse a heparina.

Sin limitación, cualquiera de los polipéptidos virales identificados por el número de registro de la siguiente Tabla 2 es de uso en diversas realizaciones de la invención.

60 Tabla 2: Proteínas de control del complemento virales representativas

Virus	Proteína	Registro	Tipo de virus
Viruela	D12L	NP_042056	Ortopoxvirus
	D15L (SPICE)	AAA69423	Ortopoxvirus

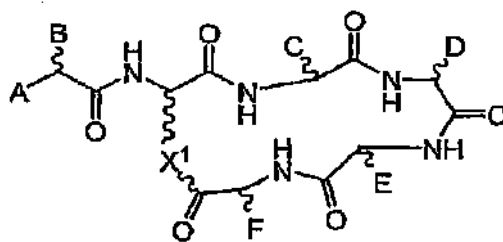
Virus	Proteína	Registro	Tipo de virus
Vacuna	VCP	AAO89304	Ortopoxvirus
Viruela bovina	CPXV034	AAM13481	Ortopoxvirus
	C17L	CAA64102	Ortopoxvirus
Viruela de los monos	D14L	AAV84857	Ortopoxvirus
Virus ectromelia	Proteína de control del complemento	CAE00484	Ortopoxvirus
Viruela de los conejos	RPXV017	AAS49730	Ortopoxvirus
Radinovirus de <i>Macaca fuscata</i>	JM4	AAS99981	Radinavirus (Herpesvirus)
Herpesvirus 17 de cercopitecinos	Proteína de unión a complemento (ORF4)	NP_570746	Herpesvirus
Virus del herpes 8 humano	Proteína de unión a complemento (ORF4)	AAB62602	Herpesvirus

Compuestos que inhiben la activación o la actividad de C5

5 Los anticuerpos y los fragmentos de anticuerpo que se unen a C5 son de uso en la invención. Algunos anticuerpos a modo de ejemplo se describen en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.534.058. Se describen compuestos que se unen a e inhiben C5 en los documentos de Publicación de Patente de Estados Unidos con números 20050090448 y 20060115476. En ciertas realizaciones el anticuerpo se une básicamente al mismo sitio de unión en C5 que un anticuerpo descrito en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.534.058 o un péptido descrito en el documento de Patente USSN 10/937.912. El documento de Publicación de Patente de Estados Unidos 10 n.º 20060105980 desvela aptámeros que se unen a e inhiben C5.

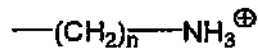
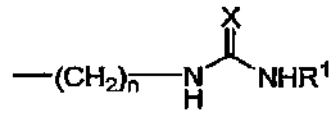
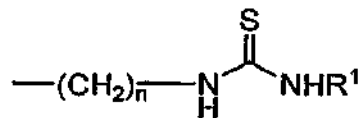
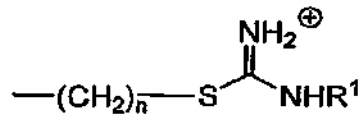
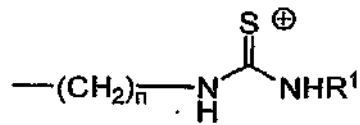
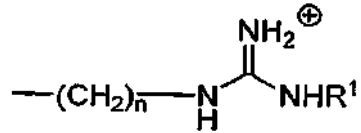
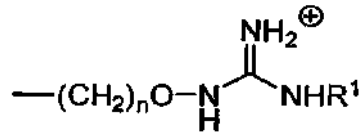
Algunos antagonistas del receptor de C5a a modo de ejemplo incluyen una diversidad de polipéptidos cíclicos pequeños tales como los que se describen en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.821.950; el documento de Patente US 2009/0117171; y/o el documento de Patente PCT/US06/08960 (WO2006/099330).

15 Por ejemplo, el compuesto puede ser de la siguiente fórmula general I:



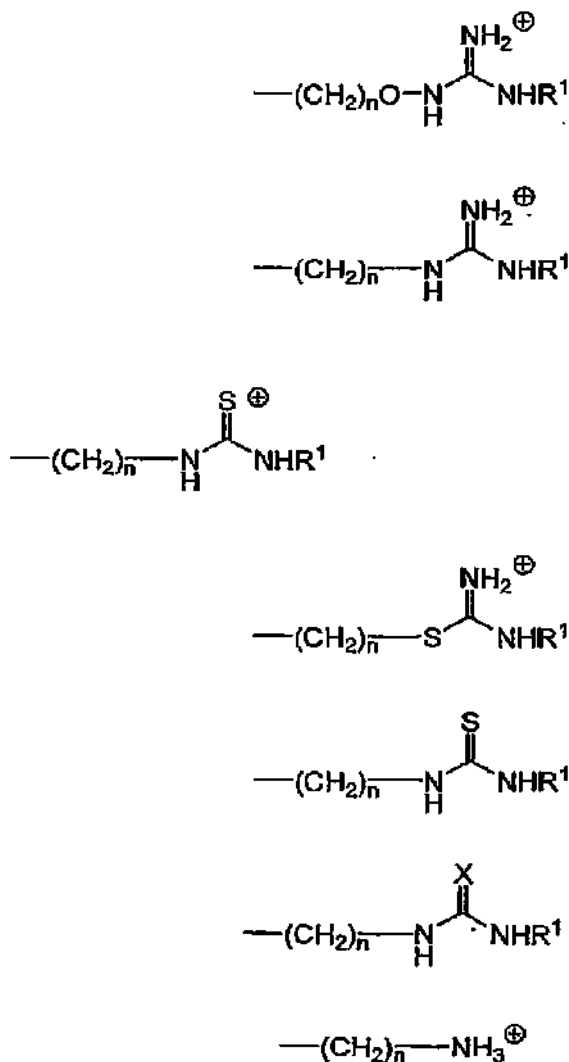
20 donde A es H, alquilo, arilo, NH₂, NHalquilo, N(alquilo)₂, NHarilo o NHacilo; B es un grupo alquilo, arilo, fenilo, bencilo, naftilo o indol, o la cadena lateral de un D- o L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en fenilalanina, homofenilalanina, triptófano, homotriptófano, tirosina, y homotirosina; C es la cadena lateral de un D-, L- o homo-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en prolina, alanina, leucina, valina, isoleucina, arginina, histidina, aspartato, glutamato, glutamina, asparagina, lisina, tirosina, fenilalanina, ciclohexilalanina, norleucina, triptófano, cisteína y metionina; D es la cadena lateral de un D- o L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en ciclohexilalanina, homociclohexilalanina, leucina, norleucina, homoleucina, homonorleucina y triptófano; E es la cadena lateral de un D- o L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en triptófano y homotriptófano; F es la cadena lateral de un D- o L-aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en arginina, homoarginina, lisina y homolisina o es una de las siguientes cadenas laterales

30



5 u otro mimético de una cadena lateral de arginina, donde X es NCN, NNO₂, CHNO₂ o NSO₂NH₂; n es un número entero de 1 a 4, y R¹ es H o un alquilo, arilo, CN, NH₂, OH, --CO--CH₂CH₃, --CO--CH₃, --CO--CH₂CH₂CH₃, --CO--CH₂Ph, o --CO--Ph; y X¹ es --(CH₂)_nNH- o (CH₂)_n-S-, --(CH₂)₂O-, --(CH₂)₃O-, --(CH₂)₃-, --(CH₂)₄-, o --CH₂COCHRNH-, donde R es la cadena lateral de cualquier aminoácido común o no común, y donde n es un número entero de 1 a 4, por ejemplo, 1, 2, 3, o 4.

10 En ciertos compuestos, F es una de las siguientes cadenas laterales:



5 u otro mimético de una cadena lateral de arginina; donde X es NCN, NNO₂, CHNO₂ o NSO₂NH₂; n es un número entero de 1 a 4, y R¹ es H o un alquilo, arilo, CN, NH₂, OH, --CO-CH₂CH₃, --CO-CH₃, --CO--CH₂CH₂CH₃, --CO--CH₂Ph, o --CO-Ph; B es un grupo indol, indol metilo, bencilo, fenilo, naftilo, naftil metilo, cinamilo, o cualquier otro derivado del grupo aromático; y C es D- o L-ciclohexilalanina (Cha), leucina, valina, isoleucina, fenilalanina, triptófano o metionina. En ciertos compuestos, A es L-arginina. En ciertos compuestos, F es un L-aminoácido. En ciertos compuestos, F es L-arginina. En ciertos compuestos, n = 1, 2, 3, o 4.

10 El compuesto se puede seleccionar entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 y 28, como se describe en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.821.950. También se pueden usar otros compuestos desvelados en el mismo. Por ejemplo, A, B, C, D, E, F, y R¹ pueden ser cualquiera de los grupos mencionados en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.821.950. Se ha de observar que a las letras A, B, C, D, E, y F de las fórmulas que se presentan en el presente documento se han de dar los significados que se describen en el presente documento y en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.821.950 y no representan elementos químicos o isótopos tales como boro, carbono, deuterio, o flúor. Los compuestos descritos anteriormente se denominarán colectivamente en el presente documento GPCRA.

20 Un inhibidor del complemento puede ser un inhibidor del receptor de C5a, por ejemplo, un antagonista de C5a. Por ejemplo, el inhibidor del complemento puede ser un péptido que tiene la siguiente secuencia: HC-[ORN-PRO-dCHA-TRP-ARG] (SEQ ID NO: 45) donde HC = hidrocínato, dCHA = d-ciclohexilalanina, ORN = 1-ornitina, y [] indica ciclación a través de un enlace amida. El inhibidor del complemento puede ser un péptido que tiene la secuencia Ac-PHE-[ORN-PRO-dCHA-TRP-ARG] (SEQ ID NO: 46), usando las mismas abreviaturas. El inhibidor del complemento puede ser el compuesto que se representa en la figura 8 o un inhibidor del receptor de C3a, por ejemplo, un antagonista de C3a.

25

Los métodos para preparar GPCRA, confirmar su estructura, y someter a ensayo su actividad como moduladores de GPCR se desvelan en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.821.950. Ciertos de estos compuestos están disponibles en Promics (Brisbane, Australia). Un inhibidor del complemento es PMX205.

5 C. Agentes terapéuticos de larga duración

En ciertas realizaciones de la invención al menos uno de los agentes terapéuticos es un agente de larga duración. Por ejemplo, ciertos inhibidores del complemento pueden tener intrínsecamente una larga duración de actividad incluso si no se proporcionan como un componente de una formulación de liberación sostenida. El agente terapéutico de larga duración puede tener, por ejemplo, un período de actividad de al menos 3 meses, al menos 6 meses, al menos 9 meses, o al menos 12 meses cuando se administra en solución en un medio líquido en cantidades médicamente aceptables. El agente terapéutico de larga duración se pueda administrar en solución en un medio líquido o puede ser un componente de una formulación sólida o semisólida que contiene opcionalmente uno o más componentes terapéuticamente activos o inactivos adicionales.

En otras realizaciones, se modifica un agente terapéutico que no es un agente de larga duración de un modo tal que se vuelva de larga duración. La modificación puede estabilizar, por ejemplo, el agente frente a la actividad de diversas moléculas endógenas tales como proteasas. Las modificaciones adecuadas se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, pegilación.

En ciertas realizaciones de la invención el agente terapéutico de larga duración se administra en forma de un componente de una formulación de liberación sostenida, por ejemplo, un implante ocular o cualquier formulación de liberación sostenida que se describe en el presente documento.

25 III. Composiciones líquidas que comprenden un agente terapéutico

En ciertas realizaciones de la invención al menos uno de los agentes terapéuticos, por ejemplo, cualquiera de los agentes terapéuticos útiles en la invención discutida anteriormente, se administra en solución en un medio líquido. Se pueden combinar preparaciones adecuadas, por ejemplo, preparaciones básicamente puras de uno o más agentes terapéuticos con vehículos farmacéuticamente aceptables, diluyentes, disolventes, etc., para producir una composición farmacéutica apropiada, es decir, una que sea farmacéuticamente aceptable para la administración al ojo. La preparación puede contener un vehículo farmacéuticamente aceptable, diluyente, etc. Los vehículos adecuados se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, agua estéril para inyección, solución salina, etc. Algunos componentes adicionales pueden incluir, pero no se limitan a, tampones, conservantes, sales, etc.

Los propios agentes terapéuticos se pueden proporcionar en forma de sales farmacéuticamente aceptables, que incluyen las que se obtienen a partir de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables. Algunos ejemplos de sales de ácido adecuadas incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, alcanforato, alcanforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Las sales obtenidas a partir de bases apropiadas incluyen sales de metal alcalino (por ejemplo, sodio y potasio), metal alcalinotérreo (por ejemplo, magnesio), amonio y $N^+(\text{alquil } C_{1-4})_4$. La presente invención también prevé la cuaternarización de cualquier grupo básico que contenga nitrógeno de los compuestos que se desvelan en el presente documento. Se pueden obtener productos solubles o dispersables en agua o aceite mediante tal cuaternarización.

Las soluciones o suspensiones pueden incluir componentes tales como un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, u otro disolvente aceptable para la administración al ojo, tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido sódico. La preparación se puede encerrar en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis individual o múltiple hechos de vidrio o plástico y proporcionados para venta comercial y/o uso de cualquiera de tales maneras. El término "suspensión" incluye una composición que comprende partículas en un medio líquido. En algunas realizaciones, las partículas consisten básicamente en un agente terapéutico. En otras realizaciones las partículas comprenden un componente de liberación de fármaco tal como un polímero y, opcionalmente, uno o más componentes adicionales tales como un excipiente.

En algunas realizaciones de la invención la composición líquida comprende un agente que mejora la captación del agente terapéutico por parte de las células, mejora la biodisponibilidad del agente en su sitio de acción, o mejora de otro modo la actividad del agente terapéutico. Por ejemplo, se conoce en la técnica una diversidad de vehículos de suministro que mejoran la captación y/o actividad de agentes de ARNi tales como siARN y se pueden incluir en la composición líquida.

Las formulaciones farmacéuticas preferentes son estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento y se pueden conservar frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos.

IV. Formulaciones de liberación sostenida

Una formulación de liberación sostenida de uso en la presente invención proporciona una concentración terapéutica de un fármaco al ojo o una parte o región del mismo durante un período prolongado de tiempo. El período de tiempo durante el que está presente un nivel terapéutico del fármaco puede ser, por ejemplo, al menos 1, 2, 4, o 6 semanas, al menos 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 24 meses, o mayor. La liberación puede comenzar inmediatamente o poco después (por ejemplo, en 24 horas) después de la administración de la formulación de suministro sostenido.

Alternativamente, la liberación se puede retrasar, por ejemplo, puede comenzar en un punto temporal al menos 24 horas después de la administración. Sin limitación, la liberación se puede producir a un ritmo constante o se puede producir de forma intermitente (por ejemplo, en estallidos durante los cuales se libera una cantidad considerable del agente), o se pueden alternar períodos de liberación constante con estallidos. En ciertas realizaciones el agente terapéutico se libera a velocidades controladas o predeterminadas cuando la formulación de liberación sostenida se sitúa en el ojo. Tales velocidades pueden variar, por ejemplo, de aproximadamente 0,003 microgramos/día a aproximadamente 5000 microgramos/día, o entre aproximadamente 01 microgramos/día a aproximadamente 5 microgramos/día, o entre aproximadamente 0,05 microgramos a aproximadamente 1 microgramo/día. En algunas realizaciones la velocidad de liberación está entre 1 µg y 5 µg/día.

Una formulación de liberación sostenida de uso en la presente invención comprende por lo general un agente terapéutico y un componente, elemento, o estructura adicional que contribuye a las propiedades de liberación sostenida de la formulación. El componente, elemento, o estructura adicional que es eficaz para proporcionar liberación sostenida se denomina en el presente documento "componente de regulación de suministro de fármaco".

Opcionalmente el elemento de regulación de suministro de fármaco se diseña para proporcionar control sobre la cinética de liberación. Se ha de entender que la naturaleza física de la formulación, por ejemplo, la forma y el área superficial total de cualquier constituyente sólido o semisólido, puede contribuir a sus propiedades de liberación sostenida. A modo de otro ejemplo, la compresión apretada de partículas que contienen un agente activo puede dar como resultado una liberación que tenga lugar durante un período de tiempo más prolongado que si las partículas no estuvieran comprimidas. En algunas realizaciones la estructura se proporciona al menos en parte mediante el propio agente terapéutico y, opcionalmente, una o más sustancias presentes en el sitio de administración tal como un ion, proteína, etc. En algunas realizaciones no necesita estar presente ningún componente de regulación de suministro de fármaco adicional en la composición administrada. Por ejemplo, una composición que comprende un agente terapéutico en un medio líquido puede formar una estructura que tenga las propiedades de un gel después de su administración. El agente terapéutico se puede liberar a lo largo del tiempo, opcionalmente a medida que se degrada la estructura. El componente de regulación de suministro de fármaco puede comprender o consistir en una matriz de polímero que esté asociada físicamente al agente terapéutico. Por ejemplo, el agente terapéutico puede estar atrapado, embebido, o encapsulado por la matriz de polímero. Una formulación de liberación sostenida puede estar en forma de un implante ocular individual, una pluralidad de nanopartículas, micropartículas, o liposomas, un material semisólido o viscoso tal como un gel, etc. El agente terapéutico puede ser preferentemente de aproximadamente un 1 % a un 90 % en peso de la formulación de liberación sostenida. Más preferentemente, el agente terapéutico es de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 80 % en peso de la formulación de liberación sostenida. En ciertas realizaciones, el agente terapéutico comprende aproximadamente un 40 % en peso de la formulación de liberación sostenida (por ejemplo, 30 %-50 %).

Se ha usado una diversidad de vehículos de suministro poliméricos para proporcionar liberación sostenida en un contexto ocular y se puede usar para administrar las composiciones de la invención. Se pueden usar diversos polímeros, por ejemplo, polímeros biocompatibles, que puede ser biodegradables. Los polímeros pueden ser homopolímeros, copolímeros (incluyendo copolímeros en bloque), lineales, de cadena ramificada, o reticulados.

Algunos polímeros útiles incluyen, pero no se limitan a, ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA), polilactido-glicólico (PLGA), poli(fosfazina), poli(éster de fosfato), policaprolactonas, polianhídridos, etileno acetato de vinilo, poliortoésteres, poliéteres, y poli(beta amino ésteres). También son de uso péptidos, proteínas tales como colágeno o albúmina, polisacáridos tales como quitosano, alginato, ácido hialurónico (o derivados de cualquiera de estos) y dendrímeros (por ejemplo, dendrímeros PAMAM). Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la materia. Ciertos de los materiales también se pueden obtener comercialmente, por ejemplo, en Alza Corporation. Cualquiera de estos polímeros, o las combinaciones de los mismos, pueden ser útiles en diversas realizaciones de la invención.

Algunos polímeros adicionales a modo de ejemplo incluyen derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosa, policarbamatos o poliureas, poli(acetato de vinilo) reticulado y similares, copolímeros de etileno-éster de vinilo que tienen un contenido de éster de un 4 a un 80 % tal como copolímero de etileno-acetato de vinilo (EVA), copolímero de etileno-hexanoato de vinilo, copolímero de etileno-propionato de vinilo, copolímero de etileno-butirato de vinilo, copolímero de etileno-pentanoato de vinilo, copolímero de etileno-trimetil acetato de vinilo, copolímero de etileno-

dietil acetato de vinilo, copolímero de etileno-3-metil butanoato de vinilo, copolímero de etileno-3-3-dimetil butanoato de vinilo, y copolímero de etileno-benzoato de vinilo, o las mezclas de los mismos.

5 Se han introducido poli(orto ésteres) en el ojo y han demostrado propiedades favorables para el suministro de fármacos oculares de liberación sostenida (Einmahl, S., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 43(5), 2002). Se han usado partículas de polilactida para fijar como diana un agente a la retina y RPE después de inyección intravítrea de una suspensión de tales partículas (Bourges, J-L, *et al.*, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 44(8), 2003).

10 Se describen formulaciones de liberación sostenida que incluyen diversos implantes oculares y otros sistemas de suministro de fármaco oculares que son de uso en diversas realizaciones de la invención, por ejemplo, en los documentos de Patente de Estados Unidos con números 6.692.759; 6.331.313; 5.869.079; 5.824.072; y los documentos de Patente U.S.S.N. 10/918.597 (Publicación n.º 20050048099); 10/837.357 (Publicación n.º 20050244469); 11/092.122 (Publicación n.º 20050244472) y 11/116.698 (Publicación n.º 20050281861) así como una diversidad de otros documentos de patente y publicaciones a los que se ha hecho referencia anteriormente.

15 Un método para preparar una formulación de liberación sostenida implica combinar o mezclar el agente terapéutico con un componente polimérico para formar una mezcla. A continuación, la mezcla se puede extruir, comprimir, moldear, etc., para formar una composición individual. Opcionalmente, se puede usar calor y/o presión. A continuación la composición individual se puede procesar para formar implantes o partículas individuales adecuados para colocación en un ojo de un paciente. Se conocen en la técnica métodos adicionales para incorporar agentes terapéuticamente activos a matrices poliméricas. La matriz polimérica se puede conformar en diversas formas tales como varillas, discos, obleas, etc., que pueden tener un intervalo de dimensiones diferente (por ejemplo, longitud, ancho, etc.) y volúmenes. Algunas formas a modo de ejemplo incluyen esférica, cilíndrica, helicoidal, forma de hilo o helicoidal, forma de tornillo, cúbica, cónica, elipsoidal, biconvexa, hemisférica o casi hemisférica, etc.

20 En ciertas realizaciones de la invención un implante ocular se dimensiona y da forma de un modo tal que entre en el eje hueco de una aguja de inyección, por ejemplo, una aguja de calibre 22, 25, 27, 30, 33, o 35 (o una aguja de cualquier calibre que varíe entre 22 y 35). Algunas dimensiones a modo de ejemplo y no limitantes para un implante cilíndrico pueden ser de aproximadamente 0,5 a 8 milímetros de longitud y de aproximadamente 0,1 a 2 milímetros de diámetro, por ejemplo, de aproximadamente 0,75 mm a aproximadamente 1,5 mm de diámetro. Implantes que tienen otras formas, por ejemplo, otras estructuras de tipo varilla con secciones transversales que son rectangulares o cuadradas en sección transversal pueden tener una sección transversal en la que los dos puntos más distantes entre sí estén separados como máximo de 0,1 mm a 1 mm. En realizaciones particulares el implante intraocular puede tener una longitud u otra dimensión mayor entre aproximadamente 5 micrómetros y aproximadamente 2 mm, o entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 1 mm para administración con una aguja. Alternativamente, la longitud u otra dimensión mayor es mayor de 1 mm, o mayor de 2 mm, tal como 3 mm o hasta 10 mm. El humor vítreo del ser humano es capaz de acomodar implantes relativamente grandes de geometrías variables, que tengan longitudes, por ejemplo, de 1 a 10 mm.

40 En ciertas realizaciones de la invención los implantes también pueden ser al menos algo flexibles, lo que puede facilitar la inserción del implante en el ojo, por ejemplo, en el humor vítreo, y/o puede facilitar la acomodación del implante. El peso total del implante puede ser aproximadamente 250-5000 microgramos, por ejemplo, aproximadamente 500-1000 microgramos. Por ejemplo, un implante puede ser de aproximadamente 500 microgramos o aproximadamente 1000 microgramos. También se pueden conformar implantes mayores y procesar adicionalmente antes de la administración a un ojo. Además, los implantes mayores pueden ser deseables donde se proporcionen cantidades relativamente mayores de un agente terapéutico en el implante, según se use.

50 En una realización la formulación de liberación sostenida es un implante ocular biocompatible que comprende una capa exterior polimérica básicamente impermeable que cubre un núcleo que comprende el fármaco que se va a suministrar, en la que dicha capa exterior tiene uno o más orificios, mediante los que se practican una o más aberturas en la capa exterior a través de las cuales, cuando el dispositivo está en uso, pueden entrar los fluidos del cuerpo al dispositivo y el fármaco contenido en el dispositivo (por ejemplo, disuelto, encapsulado, o atrapado en el dispositivo) puede migrar al exterior del dispositivo. En ciertas realizaciones los orificios tienen en total un área superficial de menos de un 10 por ciento que el área superficial total del dispositivo. En ciertas realizaciones de la invención el implante ocular comprende una capa de revestimiento exterior que es permeable al agente terapéutico, permitiendo su difusión lenta al exterior del implante. La composición, estructura, y/o espesor de la capa de revestimiento se puede seleccionar para proporcionar una velocidad de permeabilidad y difusión particular.

60 Un fármaco puede estar contenido en un implante ocular en forma de polvo seco, partículas, gránulos, o en forma de un sólido comprimido. El fármaco también puede estar presente en forma de una solución o puede estar disperso en una matriz de polímero. Los implantes oculares pueden tener el agente o agentes activos distribuidos de forma homogénea en la matriz polimérica, por ejemplo, pueden ser monolíticos. En otras realizaciones el agente o agentes activos están distribuidos de forma heterogénea en la matriz polimérica. Por ejemplo, regiones discretas del implante pueden contener partículas sólidas de un agente activo, o un depósito de agente activo puede estar encapsulado por la matriz polimérica. El agente o agentes terapéuticos pueden estar distribuidos en un patrón no homogéneo en la matriz. Por ejemplo, un implante puede incluir una parte que tenga una concentración mayor del agente terapéutico

65

con respecto a una segunda parte del implante. Las estructuras estratificadas, teniendo las capas diferentes composiciones y pudiendo tener diferentes características físicas tales como densidad o porosidad, son otra posibilidad. Por ejemplo, las capas pueden contener diferentes agentes terapéuticos o combinaciones de los mismos. En otra realización, capas que son relativamente resistentes a la degradación están intercaladas con capas que se degradan con mayor rapidez.

Los materiales poliméricos biodegradables que se incluyen para formar la matriz pueden ser objeto de inestabilidad enzimática o hidrolítica. Se pueden reticular polímeros solubles en agua con reticuladores inestables hidrolíticos o biodegradables para proporcionar polímeros insolubles en agua útiles. El grado de estabilidad puede variar ampliamente, dependiendo, por ejemplo, de la selección de monómero, de si se emplea un homopolímero o copolímero o mezcla, y de si el polímero incluye grupos ácido terminales. La biodegradación del polímero y por lo tanto el perfil de liberación prolongada de la formulación de liberación sostenida también se puede ver influenciado por el peso molecular promedio relativo de los materiales poliméricos empleados. Se pueden incluir diferentes pesos moleculares en los mismos o diferentes materiales poliméricos de las formulaciones para modular el perfil de liberación. Por ejemplo, el peso molecular promedio del polímero puede variar de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 kD, por ejemplo, de aproximadamente 10 a 100 kD, o de aproximadamente 15 a 50 kD.

Se pueden preparar nanopartículas o micropartículas usando cualquier método conocido en la técnica que incluye, pero no se limita a, secado por pulverización, separación de fase, emulsión individual y doble, evaporación de disolvente, extracción de disolvente, y coacervación simple y compleja. También se pueden preparar composiciones poliméricas formadas por partículas usando granulación, extrusión, y/o esferonización. Una composición puede contener nanopartículas o micropartículas que tengan diferentes composiciones y/o propiedades.

Las composiciones que se usan en la preparación de partículas se pueden alterar para producir partículas de un tamaño o propiedades (por ejemplo, hidrofobicidad, hidrofiliidad, morfología externa, "adherencia", forma, etc.) adecuados. El método de preparación de la partícula y las condiciones (por ejemplo, disolvente, temperatura, concentración, caudal de aire, etc.) que se usan también pueden depender del agente terapéutico y/o de la composición de la matriz de polímero.

Las micropartículas y nanopartículas de uso en la invención pueden tener una diversidad de dimensiones. Generalmente, una micropartícula tendrá un diámetro de 500 micrómetros o menos, por ejemplo, entre 1 y 500 micrómetros, entre 50 y 500 micrómetros, entre 100 y 250 micrómetros, entre 20 y 50 micrómetros, entre 1 y 20 micrómetros, entre 1 y 10 micrómetros, etc., y una nanopartícula tendrá un diámetro de menos de 1 micrómetro, por ejemplo, entre 10 nm y 100 nm, entre 100 nm y 250 nm, entre 100 nm y 500 nm, entre 250 nm y 500 nm, entre 250 nm y 750 nm, entre 500 nm y 750 micrómetros. Si las partículas preparadas mediante cualquiera de los métodos anteriores tienen un intervalo de tamaño fuera del intervalo deseado, las partículas se pueden clasificar según su tamaño, por ejemplo, usando un tamiz. Las partículas pueden ser básicamente uniformes en tamaño (por ejemplo, diámetro) o forma o pueden ser heterogéneas en tamaño y/o forma. Pueden ser básicamente esféricas o pueden tener otras formas, en cuyo caso la dimensión pertinente será la mayor dimensión recta en lugar del diámetro.

En ciertas realizaciones de la invención una formulación de liberación sostenida comprende un agente terapéutico y un material formador de gel. De acuerdo con ciertas realizaciones de la invención, se prepara una solución que contiene el material formador de gel soluble y un agente terapéutico por combinación del material formador de gel soluble y el agente terapéutico en solución usando cualquier método adecuado, por ejemplo, por adición del agente terapéutico a una solución que contiene el material formador de gel. La composición se suministra localmente a una ubicación apropiada del ojo de un sujeto. La solución forma rápidamente un gel en o cerca del sitio de administración. El agente terapéutico está atrapado en el gel. El agente terapéutico se difunde fuera del gel o se libera a medida que el gel se degrada a lo largo del tiempo, proporcionando de ese modo un suministro continuo del agente a los tejidos y estructuras que están en contacto físico directo con el gel o situados en las cercanías. En ciertas realizaciones la solución se administra detrás de la esclerótica del ojo. El suministro se puede conseguir mediante inyección (por ejemplo, usando una aguja de calibre 25, 27, o 30 o similar), mediante un catéter, etc. En otras realizaciones la solución se administra por vía intravítrea. En ciertas realizaciones un "gel" es una estructura que exhibe propiedades (por ejemplo, fluidez) intermedias entre las fases sólida y líquida. La estructura puede ser un coloide sólido o semisólido que comprende una fase continua y una fase líquida. La estructura puede tener el aspecto habitual de un gel, cuyo aspecto es fácilmente reconocible por los expertos en la materia.

En una realización, se usa colágeno soluble como material formador de gel. El colágeno es inicialmente soluble, por ejemplo, en un medio acuoso, y forma una solución que tiene una baja viscosidad pero es capaz de formación rápida de un gel en las condiciones apropiadas, por ejemplo, las condiciones que se encuentran tras la administración a un sujeto mamífero. Se puede usar una diversidad de diferentes preparaciones de colágeno en la presente invención con la condición de que sea inicialmente soluble y sea capaz de formar rápidamente un gel en las condiciones apropiadas. Se describen preparaciones de colágeno apropiadas, y métodos para su fabricación, por ejemplo, en los documentos de Patente de Estados Unidos con números 5.492.135; 5.861.486; 6.197.934; 6.204.365; y el documento de Patente WO 00/47130, pero la invención no está limitada a tales preparaciones y métodos. Estos colágenos se preparan en forma soluble y forman rápidamente un gel tras la exposición a fluidos fisiológicos u otros fluidos que tienen una concentración adecuada de iones. De acuerdo con la presente invención, inyectar o introducir

de otro modo la solución de colágeno en el ojo o cerca del ojo da como resultado la formación de un gel, supuestamente inducida por el contacto con los fluidos fisiológicos. Sin embargo, se ha de observar que la invención no está limitada en modo alguno por el mecanismo mediante el que se produce la formación del gel. Además, como se ha indicado anteriormente, el gel se puede formar *in vitro* y a continuación implantarse en la ubicación apropiada.

Otros materiales formadores de gel de uso en la invención incluyen, pero no se limitan a, ácido hialurónico y formas modificadas del mismo, polisacáridos tales como alginato y formas modificadas del mismo, péptidos de autoensamblaje, etc. Véase, por ejemplo, el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.129.761 para una descripción adicional del alginato y las formas modificadas del mismo, el ácido hialurónico y las formas modificadas del mismo, y ejemplos adicionales de materiales formadores de gel solubles que son de uso en diversas realizaciones de la presente invención. Otros precursores de hidrogel poliméricos incluyen copolímeros en bloque de óxido de polietileno-polipropilenglicol tales como Pluronic™ o Tetronics™ que están reticulados mediante enlace de hidrógeno y/o mediante un cambio de temperatura, como se describe en Steinleitner *et al.*, *Obstetrics & Gynecology*, 77:48-52 (1991); y Steinleitner *et al.*, *Fertility and Sterility*, 57:305-308 (1992). Otros materiales que se pueden utilizar incluyen proteínas tales como fibrina o gelatina. También se pueden utilizar mezclas de polímeros. Por ejemplo, se puede utilizar una mezcla de óxido de polietileno y ácido poliacrílico que forma un gel mediante enlace de hidrógeno después de la mezcla.

Por lo general, un material formador de gel de uso en la invención es capaz de disolverse al menos parcialmente, o en ciertas realizaciones de la invención disolverse básica o totalmente, por ejemplo, en un medio acuoso. Por ejemplo, puede estar disuelto al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o más, en peso, del material formador de gel presente en una composición formadora de gel. En ciertas realizaciones está disuelto básicamente un 100 % del material. El medio acuoso puede contener uno o más líquidos además de agua, por ejemplo, diversos alcoholes. En general, al menos un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, o un 100 % del líquido presente en el medio es agua.

Son útiles los precursores de hidrogel reticulables covalentemente. Por ejemplo, una poliamina soluble en agua, tal como quitosano, se puede articular con un diisotiocianato soluble en agua, tal como diisotiocianato de polietilenglicol. Los isotiocianatos reaccionarán con las aminas para formar un gel reticulado químicamente. También se pueden utilizar reacciones de aldehídos con aminas, por ejemplo, con dialdehído de polietilenglicol. También se puede utilizar un polímero soluble en agua hidroxilado.

En ciertas realizaciones de la invención un agente terapéutico está unido covalente o no covalentemente a un componente de regulación de suministro de fármaco tal como un polímero a través de un resto de unión. El resto de unión se escinde para liberar el agente terapéutico del componente de regulación de suministro de fármaco para proporcionar liberación sostenida. Por ejemplo, el resto de unión puede ser un péptido que contiene un sitio que se escinde mediante una enzima endógena tal como una proteasa o puede contener un enlace lábil o hidrolizable, por ejemplo, un enlace disulfuro, un resto éster, etc.

Se pueden implantar en el ojo células que expresen un agente terapéutico que es una macromolécula biológica tal como una proteína o un agente de ARNi y son de uso de ciertas realizaciones de la invención para proporcionar liberación sostenida. El documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.436.427 proporciona un método para suministrar moléculas biológicamente activas al ojo mediante implantes de cápsulas biocompatibles que contienen una fuente celular de la molécula biológicamente activa.

En ciertas realizaciones de la invención la formulación de liberación sostenida comprende liposomas. Por ejemplo, se puede administrar una suspensión liposomal. Los liposomas se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 4.522.811 y otras referencias que se enumeran en el mismo. Se han descrito liposomas, incluyendo los liposomas dirigidos (por ejemplo, liposomas dirigidos por anticuerpos) y liposomas pegilados (Hansen CB, *et al.*, *Biochim Biophys Acta*. 1239(2):133-44, 1995; Torchilin VP, *et al.*, *Biochim Biophys Acta*, 1511(2):397-411, 2001; Ishida T, *et al.*, *FEBS Lett.* 460(1):129-33, 1999).

El experto habitual en la materia ha de entender que los materiales y los métodos que se seleccionan para la preparación de una formulación de liberación sostenida, implante, etc., deberían ser tales que retengan la actividad del compuesto. Por ejemplo, puede ser deseable evitar un excesivo calentamiento de ciertos agentes tales como polipéptidos, que podría conducir a la desnaturalización o pérdida de actividad. Además, se ha de entender que una formulación de liberación sostenida puede contener una diversidad de componentes adicionales que carecen de actividad terapéutica y que pueden contribuir o no contribuir a las características de liberación sostenida de la formulación. Algunos ejemplos incluyen agentes plastificantes, agentes solubilizantes, agentes que disminuyen la solubilidad, y agentes dispersantes (véase el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.331.313), con la condición de que tales componentes sean compatibles con la administración al ojo en las condiciones usadas. Por ejemplo, una formulación de liberación sostenida puede incluir una β -ciclodextrina, que es eficaz para mejorar la solubilidad del agente terapéutico. La β -ciclodextrina se puede proporcionar en una cantidad de aproximadamente un 0,5 % (p/p) a aproximadamente un 25 % (p/p) del implante. En ciertos implantes, la β -ciclodextrina se proporciona

en una cantidad de aproximadamente un 5 % (p/p) a aproximadamente un 15 % (p/p) de la formulación. Otras formulaciones incluyen una gama-ciclodextrina, y/o derivados de ciclodextrina.

5 En el presente documento, una formulación de liberación sostenida puede incluir un componente de excipiente, tal como cantidades eficaces de agentes de tamponamiento, conservantes y similares. Algunos agentes de tamponamiento solubles en agua adecuados incluyen, sin limitación, carbonatos, fosfatos, bicarbonatos, citratos, boratos, acetatos, succinatos alcalinos y alcalinotérreos y similares, tales como fosfato, citrato, borato, acetato, bicarbonato, carbonato sódico, y similares. Estos agentes están presentes de forma ventajosa en cantidades suficientes para mantener el pH del sistema de aproximadamente 2 a aproximadamente 9 y más preferentemente de 10 aproximadamente 4 a aproximadamente 8. Como tal, el agente de tamponamiento puede ser tanto como aproximadamente un 5 % en peso del sistema total. Algunos conservantes solubles en agua adecuados incluyen bisulfato sódico, bisulfato sódico, tiosulfato sódico, ascorbato, cloruro de benzalconio, clorobutanol, timerosal, acetato fenilmercúrico, borato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, parabenos, metilparabeno, alcohol polivinílico, alcohol bencílico, feniletanol y similares y las mezclas de los mismos. Estos agentes pueden estar presentes en cantidades 15 de un 0,001 a aproximadamente un 5 % en peso y preferentemente de un 0,01 a aproximadamente un 2 % en peso. Estos agentes también se pueden usar en ciertas de las composiciones líquidas que se describen en el presente documento.

20 En algunas realizaciones de la invención la formulación de liberación sostenida comprende un agente que mejora la captación del agente terapéutico por parte de las células, mejora la biodisponibilidad del agente en su sitio de acción, o mejora de otro modo la actividad del agente terapéutico. Por ejemplo, se conocen en la técnica una diversidad de vehículos de suministro que mejoran la captación y/o la actividad de agentes de ARNi tales como siARN y se pueden incluir en la formulación de liberación sostenida.

25 Si se desea, las proporciones de agente terapéutico, polímero, y cualquier otro modificador se pueden determinar empíricamente mediante formulación de varios implantes, por ejemplo, con proporciones variables de tales ingredientes. Se puede usar un método aprobado por la USP para ensayo de disolución o liberación para medir la velocidad de liberación (USP 23; NF 18 (1995) pág. 1790-1798). Los implantes también se pueden someter a ensayo *in vivo*.

30 Se incluyen dentro del alcance de la expresión "formulación de liberación sostenida" de un agente terapéutico dispositivos o "chips" que incluyen uno o más depósitos que contienen el agente y que liberan el agente o una parte del mismo desde uno o más depósitos en el medio circundante (véanse, por ejemplo, los documentos de Patente de Estados Unidos con números 5.797.898 y 6.976.982). La liberación se puede producir mediante una diversidad de 35 medios. Por ejemplo, los depósitos pueden tener una tapa biodegradable que sea impermeable al agente y se degrade a lo largo del tiempo, de un modo tal que el agente terapéutico se libere una vez se haya degradado la tapa. Tapas de diferentes espesores harán que la liberación se produzca en diferentes momentos. Se pueden usar medios mecánicos, eléctricos, u otros medios para liberar el agente de un depósito, usando opcionalmente medios de control externos para regular la liberación. La liberación se puede producir en momentos predeterminados y/o en 40 cantidades predeterminadas. El dispositivo puede ser programable.

V. Métodos de administración

45 Se puede usar una diversidad de métodos, técnicas, y procedimientos diferentes para administrar el primer y el segundo agentes terapéuticos. En ciertas realizaciones de la invención la administración se lleva a cabo mediante inyección intravítrea. Aunque se ha de entender que existe una cierta cantidad de variabilidad intramédico. Un ejemplo no limitante de un procedimiento intravítreo se puede llevar a cabo como sigue a continuación: se mide la tensión del ojo por lo general con un tensiómetro y se califica clínicamente la inflamación. Se anestesian los ojos con bloqueantes de los canales de sodio (tales como novocaína) y se tratan con gotas midriáticas (de naturaleza 50 simpatomimética, anti-parasimpática o mioplégica), seguido de tratamiento adicional con gotas de anestésico y de antibiótico. A continuación se inserta un espéculo bajo los párpados y se pide al paciente que mire hacia los lados.

Se usa un calibre para medir una distancia de 2 mm desde el limbo y determinar el sitio de la inyección (esto se realiza con el fin de evitar golpear el cristalino con la aguja). A continuación se carga una jeringa de inyección (por 55 ejemplo, una jeringa de 1 ml o 0,5 ml) con una aguja (por ejemplo, una aguja de calibre 22, 25, 27, o 30) con 50-100 microlitros de un agente (por ejemplo, Avastin de 1 mg o Macugen de 0,3 mg), o se usa una jeringa que está cargada previamente con el agente. A continuación se inserta la aguja en el sitio de inyección hasta que se alcanza la mitad de la cavidad vítrea con la punta de la aguja y el fármaco se inyecta lentamente. A continuación la jeringa se retrae lentamente y se administra presión durante unos pocos segundos en el sitio de inyección con una gasa húmeda. Se administran más gotas de antibiótico y se retira el espéculo. A continuación, se observa al paciente por 60 lo general durante 10 a 60 min, tiempo durante el que se mide la presión intraocular a intervalos regulares.

Otros métodos de administración incluyen, por ejemplo, inyección coroidal, inyección transescleral o colocación de un parche escleral, cateterización arterial selectiva, administración intraocular incluyendo transretiniana, 65 subconjuntiva bulbar, inyección intravítrea, inyección supracoroidal, inyección subtenoniana, bolsillo escleral e inyección de corte escleral, mediante bomba osmótica, etc. En la inyección coroidal y el parche escleral, el médico

usa una aproximación local al ojo después del inicio de la anestesia apropiada, incluyendo analgésicos y oftalmoplégicos. Se dirige una aguja que contiene el compuesto terapéutico a la coroides o la esclerótica del sujeto y se inserta en condiciones estériles. Cuando se sitúa la aguja de forma apropiada, se inyecta el compuesto a cualquiera de las dos o a ambas de la coroides y la esclerótica.

5 La administración intraocular de fármacos destinados al tratamiento de degeneración muscular y/u otras afecciones intraoculares mediante una diversidad de métodos se conoce bien en la técnica, y se puede usar cualquier método adecuado en la presente invención. Véanse, por ejemplo, los documentos de Patente de Estados Unidos con números 5.632.984 y 5.770.589. El documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.378.526 proporciona métodos para inyección intraescleral de un material terapéutico o diagnóstico en una ubicación suprayacente a la retina, que proporciona una técnica mínimamente invasiva para suministrar el agente al segmento posterior del ojo.

15 Pueden ser necesarias tan solo modificaciones minoritarias de los procedimientos anteriores, o ninguna modificación en absoluto, para administrar el primer y el segundo agentes terapéuticos de acuerdo con la presente invención. Se pueden usar los tiempos y presiones de inyección convencionales o modificarse de forma apropiada. Por ejemplo, el tiempo total de inyección puede ser mayor que en el caso de inyección de un agente individual. Se ha de entender que la naturaleza de las modificaciones, si hubiera alguna, estarán dictadas al menos en parte por el procedimiento particular así como la por naturaleza de los agentes terapéuticos y su formulación además de la forma en la que se proporcionan para su uso por parte del médico. Por ejemplo, en una realización, se carga en la aguja una formulación de liberación sostenida que contiene el segundo agente terapéutico, por ejemplo, un implante ocular. Se puede suministrar al médico una aguja que ya tenga cargada previamente la formulación de liberación sostenida o el médico puede cargar la aguja con la formulación de liberación sostenida. El médico une la aguja a la jeringa. A continuación se aspira un volumen apropiado (que contiene una cantidad apropiada) de una solución que contiene el primer agente terapéutico en la jeringa y se lleva a cabo el procedimiento de inyección intravítrea como se ha descrito anteriormente. La depresión del émbolo de la jeringa expulsará tanto el primer agente terapéutico como la formulación de liberación sostenida en el humor vítreo (o en otro sitio del ojo si se usa una técnica distinta de una inyección intravítrea). En otra realización, se proporciona al médico una jeringa que contiene un volumen apropiado de una solución que contiene el primer agente terapéutico, opcionalmente junto con una aguja que está cargada previamente con la formulación de liberación sostenida que contiene el segundo agente terapéutico. De ese modo, el médico no necesita realizar ninguna medición, dilución, ni ninguna otra manipulación de los propios agentes terapéuticos.

35 En otra realización, ambos agentes terapéuticos están contenidos en jeringas individuales. La inyección se lleva a cabo con un montaje de aguja y jeringa, en el que la jeringa contiene el primer agente terapéutico o, más generalmente, la jeringa contiene una composición que comprende el primer agente terapéutico. Después de la administración del agente terapéutico contenido en la jeringa, se retira la jeringa y se une a la aguja una segunda jeringa, que contiene el segundo agente terapéutico o, más generalmente, una composición que comprende el segundo agente terapéutico. A continuación se administra el segundo agente (o composición) terapéutico. Los agentes terapéuticos se pueden administrar en cualquier orden. Se puede administrar consecutivamente cualquier número de agentes terapéuticos, sin retirar la punta de la aguja del ojo del sujeto.

45 La figura 9 muestra una realización a modo de ejemplo de un montaje de aguja y jeringa que se puede usar para poner en práctica la invención. El montaje incluye una jeringa que tiene un barril y un émbolo con un tope en su extremo. La jeringa se une a una aguja, por lo general por medio de una punta roscada con una abertura (por ejemplo, una punta de anclaje Luer), que no se muestra. La parte de la jeringa entre el tope y el extremo del barril contiene un agente terapéutico, por ejemplo, un inhibidor de la angiogénesis. La jeringa contiene un agente terapéutico adicional, por ejemplo, una formulación de liberación sostenida tal como un implante ocular que contiene un agente terapéutico (por ejemplo, un inhibidor de complemento). Con fines de claridad, el implante se representa fuera de la aguja en la figura 9 aunque, por supuesto, debería estar situado dentro del eje de la aguja para su administración. Al ejercer presión en el émbolo después de la introducción de la aguja en el ojo de un sujeto se expulsará tanto el agente terapéutico de la jeringa como el implante ocular de la aguja en el ojo. En otras realizaciones, la jeringa se puede proporcionar con medios adicionales o alternativos de expulsión del implante.

55 En ciertas realizaciones de la invención el primer y el segundo agentes terapéuticos se suministran a diferentes estructuras, regiones, compartimentos, o tejidos del ojo en un procedimiento individual. Por ejemplo, una aguja u otro instrumento puede pasar a través de diferentes estructuras, regiones, compartimentos, o tejidos del ojo durante el proceso de insertar y retirar la aguja. El primer y el segundo agentes terapéuticos se pueden expulsar en diferentes estructuras, regiones, compartimentos, o tejidos del ojo en el curso de un procedimiento de inyección individual. Por ejemplo, en una realización, uno de los agentes terapéuticos se introduce en el humor vítreo y uno de los agentes terapéuticos se introduce en una estructura, región, compartimento, o tejido diferente del ojo en un procedimiento individual. Se puede introducir en el humor vítreo el agente que proporciona una mejora rápida en el estado del ojo del sujeto o la formulación de liberación sostenida del segundo agente terapéutico.

65 El volumen que se administra dependerá de la ubicación del ojo en la que se administra la composición. Por ejemplo, para inyección intravítrea, se usan preferentemente volúmenes de 200 µl, preferentemente 100 µl o menos. En ciertas realizaciones el volumen total del líquido inyectado es 200 µl o menos, 100 µl o menos, 50 µl o menos. En

ciertas realizaciones de la invención el volumen total de material introducido en el ojo del sujeto (incluyendo líquido y cualquier componente sólido o semisólido) es de 500 µl o menos, 400 µl o menos, 300 µl o menos, 200 µl o menos, 100 µl o menos, 50 µl o menos, o 25 µl o menos.

5 VI. Terapia génica

En el presente documento se desvela una terapia génica, en la que se administran al ojo uno o más agentes terapéuticos que son un ácido nucleico que codifica un agente terapéutico tal como un siARN o una proteína tal como una VCCP en asociación operable con elementos reguladores suficientes para dirigir la expresión del ácido nucleico. Una composición que comprende un agente terapéutico de ácido nucleico puede consistir básicamente en el ácido nucleico o un vector de terapia génica en un diluyente aceptable, o puede comprender un componente de regulación de liberación de fármaco tal como una matriz de polímero con el que está asociado físicamente el ácido nucleico o el vector de terapia génica, por ejemplo, con el que está mezclado o con el que está encapsulado o embebido. El vector de terapia génica puede ser un plásmido, virus, u otro vector. Alternativamente, la composición farmacéutica puede comprender una o más células que produzcan un ácido nucleico o polipéptido terapéutico. Preferentemente tales células segregan el agente terapéutico en el espacio extracelular.

Los vectores virales que se han usado para protocolos de terapia génica incluyen, pero no se limitan a, retrovirus, lentivirus, otros ARN virus tales como poliovirus o virus Sindbis, adenovirus, virus asociados a adenovirus, herpes virus, SV 40, vacuna y otros ADN virus. Los vectores retrovirales o lentivirales de replicación defectuosa son vectores de transferencia génica ampliamente utilizados. Los métodos químicos de terapia génica implican transferencia génica mediada por vehículo a través del uso de vesículas de lípidos fusogénicas tales como liposomas u otras vesículas para fusión de membrana. Se puede introducir de forma conveniente un vehículo que aloja un ácido nucleico de interés en el ojo o en los fluidos corporales o la corriente sanguínea. El vehículo se puede dirigir específicamente al sitio al órgano o tejido diana en el cuerpo. Por ejemplo, se pueden usar liposomas portadores de ADN específicos de célula o tejido y el ácido nucleico extraño portado por el liposoma se puede absorber por parte de esas células específicas. La transferencia génica también puede implicar el uso de compuestos basados en lípidos que no son liposomas. Por ejemplo, lipofectinas y citofectinas son compuestos basados en lípidos que contienen iones positivos que se unen a ácidos nucleicos cargados negativamente y forman un complejo que puede transportar el ácido nucleico a través de una membrana celular.

Ciertos polímeros catiónicos se unen espontáneamente a y condensan ácidos nucleicos tales como ADN en nanopartículas. Por ejemplo, se han usado proteínas de origen natural, péptidos, o derivados de los mismos. Los polímeros catiónicos sintéticos tales como polietilimina (PEI), polilisina (PLL), etc., condensan ADN y son vehículos de suministro útiles. También se pueden usar dendrímeros. Numerosos polímeros útiles contienen tanto grupos amino cargables, que permiten la interacción iónica con fosfato de ADN cargado negativamente, como una región degradable, tal como una unión éster hidrolizable. Algunos ejemplos incluyen poli(alfa-(4-aminobutil)-L-ácido glicólico), red de poli(amino éster), y poli(beta-amino ésteres). Estos agentes de complejación pueden proteger ácidos nucleicos frente a la degradación, por ejemplo, de nucleasas, componentes del suero, etc., y crear una carga superficial menos negativa, que puede facilitar el paso a través de membranas hidrófobas (por ejemplo, citoplasmática, lisosomal, endosomal, nuclear) de la célula. Ciertos agentes de complejación facilitan los sucesos de tráfico intracelular tales como escape endosomal, transporte citoplasmático, y entrada nuclear, y se pueden disociar del ácido nucleico.

45 VII. Artículos de fabricación

En otro aspecto de la invención, se proporciona un artículo de fabricación, que se puede denominar paquete o kit farmacéutico, que comprende el primer y el segundo agentes terapéuticos y una aguja que contiene el segundo agente terapéutico y, opcionalmente, material o artículos adicionales útiles para tratar los trastornos que se han descrito anteriormente. En otro aspecto, se proporciona un artículo de fabricación que comprende el primer y el segundo agentes terapéuticos del primer aspecto, en el que cada agente terapéutico está contenido en una jeringa individual y en el que el artículo de fabricación comprende además opcionalmente una aguja. El artículo de fabricación puede comprender un recipiente o una etiqueta o prospecto sobre o asociado al recipiente. Algunos recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, etc. Los recipientes se pueden formar a partir de una diversidad de materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente contiene una composición que es, sola o junto con otra composición, eficaz para tratar la afección. Opcionalmente, el recipiente puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser vial que tiene un tope perforable por una aguja de inyección hipodérmica). La etiqueta o el prospecto puede indicar que la composición se usa para tratar una o más afecciones de selección, por ejemplo, un trastorno ocular tal como degeneración macular. El artículo de fabricación puede comprender (a) un primer recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende un primer agente terapéutico; y (b) un segundo recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende una formulación de liberación sostenida de un segundo agente terapéutico. El artículo de fabricación en esta realización de la invención puede comprender además un prospecto que indica que la primera y la segunda composiciones se pueden usar para tratar un trastorno ocular particular, por ejemplo, ARMD exudativa. Además, o alternativamente, el artículo de fabricación puede comprender además un segundo (o tercer)

recipiente que comprende un líquido farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWF1), solución salina taponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa.

En ciertas realizaciones de la invención el artículo de fabricación puede comprender además uno o más dispositivos o instrumentos para administrar un agente terapéutico al ojo. Por ejemplo, el artículo de fabricación puede incluir una o más agujas (por ejemplo, una aguja de calibre 22, 25, 27, o 30) y/o una o más jeringas (por ejemplo, jeringas de 0,3, 0,5, o 1,0 ml). La aguja o la jeringa, o ambas, pueden contener una o más composiciones que comprendan una forma de dosificación unitaria de un agente terapéutico. Por ejemplo, el artículo de fabricación puede incluir una aguja o jeringa que contiene un volumen y/o cantidad predeterminado de una composición que comprende un agente terapéutico. El artículo de fabricación puede contener una aguja o jeringa que contiene una formulación de liberación sostenida de un agente terapéutico, por ejemplo, un implante ocular. La aguja y la jeringa pueden estar unidas entre sí, pero no necesariamente. La aguja y/o la jeringa se pueden proporcionar con un tapón retirable. La provisión de una o más composiciones ya cargadas en el dispositivo que se usará para administrar el agente o agentes puede proporcionar un aumento de fiabilidad, seguridad, y conveniencia. El artículo de fabricación puede incluir una pluralidad de jeringas, cada una de las cuales contiene opcionalmente una forma de dosificación unitaria de un agente terapéutico diferente. Por ejemplo, se pueden incluir una primera jeringa que contiene un primer agente terapéutico y una segunda jeringa que contiene un tercer agente terapéutico. En una realización, se proporcionan una primera jeringa que contiene un inhibidor de la angiogénesis y una segunda jeringa que contiene un inhibidor de complemento. Cualquiera de los dos o ambos agentes pueden estar en una composición líquida. Cualquiera de los dos o ambos agentes pueden ser un componente de una formulación de liberación sostenida. Cada jeringa puede contener una composición que contiene un agente terapéutico individual y opcionalmente otros componentes tales como un vehículo farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, una o más de las jeringas pueden contener una composición que contiene una pluralidad de diferentes agentes terapéuticos y opcionalmente otros componentes tales como un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los componentes individuales que se han descrito anteriormente se pueden envasar junto con un recipiente de mayor tamaño, por ejemplo, una caja, sobrecito, poliestireno extruido, o envoltorio de plástico, u otro recipiente, que puede contener opcionalmente material de envasado adicional. Se debería tener cuidado de usar materiales que, si fuera necesario o deseable, protejan al agente o agentes terapéuticos de la luz y/o otras condiciones ambientales y no afecten de forma adversa a los mismos. El artículo de fabricación puede incluir instrucciones, por ejemplo, en forma de un prospecto, que instruyan al médico en lo que respecta a los métodos mediante los que se deberían administrar las composiciones incluyendo, si fuera apropiado, instrucciones para montar, diluir, o manipular de otro modo cualquier componente individual. En una realización, cada artículo de fabricación contiene cantidades apropiadas de la primera y la segunda composiciones que comprenden el primer y el segundo agentes terapéuticos para llevar a cabo un procedimiento individual (es decir, una administración individual del primer y el segundo agentes terapéuticos al ojo). Se incluyen opcionalmente dispositivos o instrumentos tales como una aguja y una jeringa para llevar por procedimiento. La aguja, la jeringa, o ambas, pueden estar cargadas previamente con una composición que comprende un agente terapéutico. Los artículos de fabricación que contienen uno o más de cualquiera de los agentes terapéuticos, las formulaciones de liberación sostenida de los mismos, y/o los dispositivos o instrumentos para administrar un agente terapéutico al ojo, y cualquier combinación de los mismos, están dentro del alcance de la invención.

Preferentemente, cualquier composición que se administra al ojo es estéril. La composición puede estar preparada a partir de componentes estériles, o se puede llevar a cabo una esterilización después de la fabricación. Los métodos de esterilización incluyen irradiación, calor, etc. Preferentemente, el método de estabilización usado no reduce básicamente la actividad o la actividad biológica o terapéutica de los agentes terapéuticos. Los dispositivos y los instrumentos que se usan para administración al ojo también son preferentemente estériles, al menos en la medida en la que entran en el ojo.

VIII. Ensayo en modelos de animales

Se conocen en la técnica modelos de animales que replican uno o más rasgos de degeneración macular, retinopatía diabética, CNV, inflamación, u otras afecciones oculares. Se puede administrar un compuesto de la invención en diversas dosis a ratones, ratas, perros, primates, etc. que tengan degeneración macular y/o CNV espontánea o en los que se haya inducido degeneración macular y/o CNV mediante un tratamiento. Se evalúa la capacidad del compuesto para prevenir o tratar uno o más signos o síntomas de degeneración macular (por ejemplo, CNV, acumulación de lipofuscina en y/o drusas bajo el RPE, atrofia o hipertrofia de fotorreceptores, pigmentación alterada del RPE, pérdida de fotorreceptores, electroretinograma alterado, etc.). Se puede usar examen visual, fotografía, histopatología, inmunohistología, etc.

Los modelos útiles incluyen animales (por ejemplo, ratones, cerdos del Yucatán, monos, etc.) en los que se induce CNV mediante tratamiento con láser (véase, por ejemplo, Bora, P.S., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. 100(5): 2679-2684, 2003; Zacks, DN, *et al.*, Invest Ophthalmol Vis Sci. 243(7):2384-91, 2002). Otros modelos incluyen animales que se han tratado con una diversidad de agentes tales como hidroperóxido de lípido (Tamai, K., *et al.*, Exp Eye Res. 74(2):301-8, 2002), microgránulos que comprende factores de crecimiento, etc. También son útiles animales sometidos a ingeniería genética que sobreexpresan o subexpresan uno o más genes. Por ejemplo, los ratones

transgénicos (ratones mcd/mcd) que expresan una forma mutada de catepsina D que es enzimáticamente inactiva presentan rasgos asociados a atrofia geográfica (Rakoczy, PE, et al, Am. J. Path., 161(4), 1515-1524, 2002). La expresión mediada por virus asociados a adenovirus (AAV) de factor de crecimiento endotelial vascular induce CNV en ratas (Wang, F., et al., Invest Ophthalmol Vis Sci. 44(2):781-90, 2003). Un modelo de animal es un ratón transgénico deficiente en proteína quimioattractora de monocitos (Ccl-2) o su receptor de quimioquina cognado (Ccr-2) (Ambati, J., et al., Nat Med. 9(11):1390-7, 2003; documento de Patente U.S.S.N. 10/685.705 - documento de Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20040177387). Los ratones envejecidos con una deficiencia en cualquiera de estas proteínas exhiben una diversidad de rasgos que ARMD incluyendo acumulación de lipofuscina en y drusas bajo el RPE, atrofia de fotorreceptores, y CNV. Se desvelan métodos para someter a ensayo la eficacia de un agente candidato usando este modelo de ratón en el documento de Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20040177387. En general, se administra un agente candidato al ratón antes o después del desarrollo de rasgos de ARMD, y se monitoriza menos un ojo para el desarrollo o regresión de drusas y/o acumulación de lipofuscina en el mismo, para el efecto del agente candidato en la membrana de Bruch, el efecto en la degeneración retiniana, y/o para el efecto en CNV.

Los agentes terapéuticos se administran como se describe en el presente documento. El ojo se puede analizar mediante oftalmoscopia (por ejemplo, oftalmoscopia indirecta, evaluación de lámpara de hendidura), angiografía (por ejemplo, angiografía con fluoresceína), histopatología, tomografía por coherencia óptica (OCT), fotografía del fondo, o una combinación de los mismos. Cualquiera de estos métodos se puede usar para evaluar la eficacia en un modelo de animal o en seres humanos. Los compuestos que muestran resultados prometedores en los estudios de animales se someten a ensayo en seres humanos, por ejemplo, usando protocolos y puntos finales convencionales para ensayos clínicos para terapias para ARMD o retinopatía diabética pero se ha de entender que se pueden administrar agentes a seres humanos sin la evidencia de eficacia en modelos de animales.

IX. Identificación de sujetos y respuesta de evaluación

La invención puede incluir la provisión de un sujeto al que se va a administrar una composición de la invención. El sujeto padece por lo general un trastorno ocular caracterizado por degeneración macular, CNV, o RNV. Las composiciones se administran al sujeto de acuerdo con la invención con la intención de tratar o prevenir tal afección. De ese modo, por lo general se habrá identificado que el sujeto tiene riesgo de padecer o padece tal afección. Los métodos para el diagnóstico de degeneración macular, CNV, y RNV, etc., y para evaluar la respuesta a la terapia se conocen en la técnica.

Se puede usar cualquier ensayo y criterio adecuado para identificar un sujeto con riesgo de padecer o que padece una afección relacionada con degeneración macular, retinopatía diabética, o CNV y/o para evaluar el estado del ojo del sujeto antes o después de la terapia (por ejemplo, para determinar si el sujeto se encuentra en necesidad de terapia o ha respondido a la terapia). La agudeza visual se puede medir usando, por ejemplo, una carta de Snellen, una carta de Bailey-Lovie, una carta de progresión decimal, un ensayo de agudeza visual de Freiburg, una medición del ángulo mínimo de resolución (MAR), etc. Se puede medir la metamorfopsia (distorsión visual) usando una carta de Amsler. Se puede medir la sensibilidad de contraste usando una carta de Pelli-Robson. Los estudios diagnósticos incluyen, pero no se limitan a, examen oftálmico convencional del fondo, examen estereo biomicroscópico de la mácula, angiografía con fluoresceína del fondo intravenoso, fotografía del fondo, videoangiografía con verde de indocianina, y tomografía por coherencia óptica (OCT). La OCT puede ser de uso particular para medir el espesor macular, un indicador de edema macular. Un sujeto que presenta una anomalía en uno o más de estos estudios diagnósticos (por ejemplo, un sujeto que está fuera de un intervalo que se considera normal para un ojo sano) se puede tratar de acuerdo con la presente invención.

Se puede clasificar a los sujetos por tener ARMD temprana, intermedia, o avanzada de acuerdo con el esquema de clasificación que se usa en el estudio de enfermedades oculares relacionadas con la edad (AREDS), que se expone en las directrices desarrolladas por la Academia Americana de Oftalmología (American Academy of Ophthalmology, Age Related Macular Degeneration Preferred Practice Pattern™, 2003; disponible para descarga en el URL www.aao.org/aao/education/library/ppp/amd_new.cfm). Un sujeto que entra dentro de cualquiera de estas categorías se puede tratar de acuerdo con la presente invención. Si el sujeto ya ha desarrollado CNV, el sujeto puede tener CNV clásica, CNV oculta, o una mezcla de las dos. Por supuesto, se podrían usar esquemas de clasificación alternativos, de los cuales se describe una diversidad en la bibliografía.

Se conoce que la ARMD tiene un componente genético, basado en estudios que muestran un aumento de la incidencia de ARMD en individuos con familiares que padecen ARMD (por ejemplo, estudios de gemelos). Por lo tanto, un sujeto se puede considerar con riesgo de desarrollar ARMD si tiene uno o más parientes cercanos (por ejemplo, padre, abuelo, hermano, primo, tío, tía), que han recibido un diagnóstico de ARMD. Los individuos que tienen ciertas variantes polimórficas de genes que codifican ciertos componentes del complemento, tales como el gen del factor H, son particularmente propensos a desarrollar ARMD (véase, por ejemplo, Klein RJ, et al., Science, 308(5720):385-9, 2005; Edwards AO, et al., Science, 308(5720):421-4, 2005; Haines JL, et al., Science, 308(5720):419-21, 2005). En una realización el método comprende proporcionar o determinar el genotipo de un sujeto, en el que el genotipo incluye información en lo que respecta a la presencia de uno o más polimorfismos que

predisponen a ARMD. Opcionalmente, el gen codifica un componente del complemento, por ejemplo, factor H o factor B.

5 Los individuos que fuman y/o consumen una dieta alta en grasas también se encuentran en riesgo aumentado. La incidencia de ARMD aumenta con la edad. Por lo tanto, un individuo por encima de aproximadamente 50 años de edad, generalmente al menos 60 o al menos 70 años de edad se puede considerar en riesgo aumentado. Un individuo que tiene drusas y uno o más factores de riesgo adicionales puede estar en riesgo particular de desarrollar ARMD. Un individuo con múltiples drusas, particularmente si son grandes y con límites borrosos, puede estar en riesgo particular. Un individuo con hiperpigmentación o hipopigmentación o atrofia geográfica del RPE puede estar
10 en riesgo particular. Se asocian mutaciones genéticas específicas a diversas afecciones relacionadas con degeneración macular menos comunes. Un sujeto que ha recibido un diagnóstico de diabetes está en riesgo de desarrollar retinopatía diabética. Además, un sujeto que ha desarrollado ARMD en un ojo está en riesgo aumentado de desarrollar el trastorno en el otro ojo.

15 La respuesta a la terapia se puede evaluar mediante cualquiera de los métodos mencionados anteriormente. Se han llevado a cabo numerosos estudios para evaluar la eficacia de una diversidad de terapias diferentes en la restitución de la visión, prevención de la pérdida visual, y/o que dan como resultado la mejora o la ralentización del progreso de ARMD o neovascularización corooidal según se juzga mediante ensayos diagnósticos tales como los que se han descrito anteriormente. El experto habitual en la materia será capaz de seleccionar los criterios apropiados con los
20 que juzgar la eficacia de la terapia.

La mejora rápida en el estado del ojo del sujeto puede ser, por ejemplo, cualquier mejora clínicamente significativa de un signo o síntoma asociado al trastorno ocular. Por ejemplo, la mejora puede ser una mejora en la agudeza visual (por ejemplo, agudeza visual mejor corregida) tal como ganar 1, 2, 3, o más líneas en una carta ocular. La
25 mejora puede ser una disminución en el espesor macular, por ejemplo, una disminución en al menos 50 µm, al menos 100 µm, al menos 150 µm, etc. La mejora puede ser una disminución en el área de exudado evidente en o sobre la retina.

La mejora puede ser un aumento de al menos un 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 200 %, 300 %, o más, en cualquier medida cuantitativa del estado del ojo del sujeto, donde un aumento en la medida cuantitativa indique la mejora en el estado del ojo del sujeto. La mejora puede ser una disminución de al menos un 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o más, en cualquier medida cuantitativa del estado del ojo del paciente, donde una disminución en la medida cuantitativa indique la mejora en el estado del ojo de sujeto. Si se usa un sistema de calificación como indicación del estado del ojo del sujeto (por ejemplo, un sistema de calificación que incluya calificaciones que varían de 1-3, 1-5, 1-10, etc.), la mejora puede ser, por ejemplo, un aumento de al menos
30 1, 2, 3, o más unidades, donde un aumento en la calificación indique la mejora en el estado del ojo del sujeto.

Alternativamente, si se usa un sistema de calificación en el que una disminución en la calificación indica una mejora en el estado del ojo del paciente, la mejora puede ser una disminución de al menos 1, 2, 3, o más unidades. El experto habitual en la materia entenderá que se puede usar una diversidad de sistemas de calificación. Por ejemplo, las calificaciones se pueden expresar en términos de unidades tales como "+" o "-" en lugar de con números enteros. Por supuesto, se ha de entender que las respuestas individuales variarán, y no todos los sujetos responderán. En estudios de animales y ensayos clínicos, los cambios en el estado del ojo de un sujeto se pueden expresar en términos de un cambio promedio o medio en la población estudiada y/o el uso de ensayos estadísticos apropiados.
40

45 En un ejemplo, los sujetos con ARMD exudativa se dividen en dos grupos. Se evalúa una diversidad de parámetros, por ejemplo agudeza visual (por ejemplo, la mejor agudeza visual corregida), sensibilidad de contraste, distorsión visual, número o área de hemorragia retiniana, espesor macular, etc., para proporcionar una indicación de línea base del estado del ojo del sujeto. Un grupo recibe una inyección intravítrea individual de un primer agente terapéutico, por ejemplo, un inhibidor de la angiogénesis tal como un agente anti-VEGF, por ejemplo, Lucentis, Avastin, o Macugen. El otro grupo recibe la misma dosis del primer agente terapéutico y también recibe una formulación de liberación sostenida de un segundo agente terapéutico (por ejemplo, un inhibidor del complemento tal como compstatina o un derivado de la misma), administrándose ambos agentes conjuntamente mediante una inyección intravítrea individual. La formulación de liberación sostenida puede ser, por ejemplo, un implante ocular con forma cilíndrica o de tornillo que comprende el segundo agente terapéutico, una pluralidad de partículas que comprenden el agente, una composición que forma una estructura sólida o semisólida discreta tal como un gel después de la administración, etc. Los grupos se monitorizan a lo largo del tiempo. Se evalúan parámetros tales como agudeza visual (por ejemplo, la mejor agudeza visual corregida), sensibilidad de contraste, distorsión visual, número o área de hemorragia retiniana, espesor macular, etc., preferentemente usando los mismos métodos y métricas que se usaron
50 en la evaluación inicial para determinar los valores de línea base. Por ejemplo, la resolución de edema macular se puede monitorizar mediante OCT. Las evaluaciones para determinar el número de sujetos que experimentan una mejora rápida en el estado de un ojo tratado pueden tener lugar, por ejemplo, 1 semana, 10 días, o 2 semanas después del tratamiento. Se compara el número de sujetos que experimentan una mejora rápida en el estado de un ojo tratado (por ejemplo, disminución rápida de edema macular y sus molestias visuales asociadas) entre los dos grupos. También se monitorizan el tiempo medio de desestabilización, por ejemplo, el tiempo medio antes de se produzca un empeoramiento agudo en uno o más de los parámetros anteriores. También se monitorizan (por
55 60 65

- ejemplo, usando angiografía con fluoresceína y/o examen oftálmico) el grado de neovascularización y/o derrame de los vasos en diversos puntos temporales después del tratamiento, por ejemplo, puntos temporales en los días 30, 60, 90, 120, 150, y 180 y a intervalos de 30 días después del último (o un subconjunto apropiado de estos puntos temporales). Se puede evaluar y comparar el cambio desde la línea base en la calificación del espesor retiniano entre los dos grupos. Una mayor disminución media en el espesor retiniano en uno o más de los puntos temporales anteriores en el grupo que recibió la terapia combinada de la presente invención es indicativa de que la terapia combinada de la presente invención proporciona una ventaja terapéutica para tratar el trastorno ocular. Se puede evaluar el cambio desde la línea base en la calificación de derrame de fluoresceína (donde la calificación de derrame de fluoresceína proporciona una indicación de neovascularización y/o derrame de los vasos y una mayor calificación indica una mayor cantidad de neovascularización y/o derrame de los vasos). Una mayor disminución media en la calificación de derrame de fluoresceína desde la línea base en el grupo que recibió la terapia combinada de la presente invención es indicativa de que la terapia combinada de la presente invención proporciona una ventaja terapéutica para tratar el trastorno ocular.
- 15 Cada uno de los ejemplos anteriores se repite excepto en que el primer y el segundo agentes terapéuticos son ambos inhibidores del complemento o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, el primer agente terapéutico es una VCCP y el segundo agente terapéutico es una GPCRA. Alternativamente, el primer agente terapéutico es compstatina o un derivado de la misma y el segundo agente terapéutico es una VCCP.
- 20 Cada uno de los ejemplos anteriores se repite excepto en que uno de los grupos recibe, mediante una inyección intravítrea individual, una composición que comprende múltiples agentes terapéuticos en un medio líquido y una formulación de liberación sostenida que comprende al menos un agente terapéutico. Los agentes terapéuticos múltiples pueden ser, por ejemplo, diferentes inhibidores de la angiogénesis. Alternativamente, los agentes terapéuticos múltiples pueden incluir un inhibidor del complemento y un inhibidor de la angiogénesis. La formulación de liberación sostenida puede contener, por ejemplo, dos o más inhibidores del complemento diferentes o un inhibidor del complemento y un inhibidor de la angiogénesis. Por ejemplo, en una realización de la formulación de liberación sostenida contiene un análogo de compstatina y Lucentis.
- 30 Cada uno de los ejemplos anteriores se repite excepto en que al menos un agente terapéutico es un agente de ARNi. Por ejemplo, el primer o el segundo agente terapéutico es un siARN que inhibe la expresión de una o más moléculas proangiogénicas endógenas tales como una o más isoformas de VEGF, uno o más receptores de VEGF, uno o más componentes del complemento, etc. En una realización, la formulación de liberación sostenida contiene al menos dos agentes de ARNi, cada uno de los cuales inhibe la expresión de una molécula proangiogénica diferente. Por ejemplo, la formulación de liberación sostenida puede contener Cand5 y Sima-027.
- 35 Cada uno de los ejemplos anteriores se repite en sujetos que padecen retinopatía diabética.
- 40 En otro ejemplo se evalúa la capacidad de la invención para inhibir el progreso de ARMD temprana (AREDS 2) a ARMD intermedia (AREDS 3). Los sujetos con ARMD temprana se dividen en dos grupos, uno de los cuales recibe una combinación de agentes de la invención como se describe en cualquiera de los dos ejemplos anteriores mientras que el otro no recibe ninguna terapia, o bien una terapia alternativa tal como una terapia con un agente individual, por ejemplo, Lucentis, Avastin, o Macugen como se describe en cualquiera de los dos ejemplos anteriores. Los grupos se monitorizan durante un período de tiempo (por ejemplo, como se ha descrito anteriormente). Además, se determina el porcentaje de sujetos que progresan de ARMD temprana a intermedia. Una menor proporción de sujetos que progresan a ARMD intermedia en el grupo que recibe la terapia combinada de la presente invención es indicativa de que la terapia combinada de la presente invención proporciona una ventaja terapéutica para tratar el trastorno ocular.
- 45
- 50 En otro ejemplo se evalúa la capacidad de la invención para inhibir el progreso de ARMD intermedia (AREDS 3) a ARMD avanzada (AREDS 4). Los sujetos con ARMD intermedia se dividen en dos grupos, uno de los cuales recibe una combinación de agentes de la invención como se describe en cualquiera de los dos ejemplos anteriores mientras que el otro no recibe ninguna terapia, o bien una terapia alternativa tal como Lucentis, Avastin, Macugen como se describe en cualquiera de los dos ejemplos anteriores. Los grupos se monitorizan durante un período de tiempo (por ejemplo, como se ha descrito anteriormente). Se determina el porcentaje de sujetos que progresan de ARMD intermedia a avanzada. Una menor proporción de sujetos que progresan a ARMD avanzada en el grupo que recibe la terapia combinada de la presente invención es indicativa de que la terapia combinada de la presente invención proporciona una ventaja terapéutica para tratar el trastorno ocular.
- 55
- 60 Además de monitorizar el progreso de ARMD, también se puede monitorizar la incidencia de efectos secundarios y complicaciones. La consideración de los efectos secundarios es un aspecto importante cuando se evalúa el resultado global y la proporción de riesgo/beneficio de la terapia. Por ejemplo, si dos terapias son igualmente eficaces en términos de inhibir el progreso de o tratar ARMD, la terapia con una menor incidencia de efectos secundarios (por ejemplo, complicaciones graves tales como las que se han mencionado anteriormente) se prefiere por lo general para la mayoría de los sujetos. En ciertas realizaciones de la terapia de la invención de un trastorno tal como ARMD, o un trastorno que presenta CNV o RNV a partir de cualquier causa, el uso de los métodos y las composiciones de la invención está asociado a menores efectos secundarios totales, por ejemplo, complicaciones
- 65

graves, a lo largo del tiempo (por ejemplo, durante un período de 1-2 años) que una terapia en la que se administran múltiples agentes individualmente o una terapia en la que solo se usa un agente terapéutico individual.

Equivalentes y alcance

5 En las reivindicaciones y en cualquier otro lugar de la memoria descriptiva, los artículos tales como "un", "uno", "una", "el", y "la" pueden significar uno o más de uno a menos que se indique lo contrario o sea evidente de otro modo a partir del contexto. Por ejemplo, se debería entender que los artículos indefinidos "un" y "una", como se usan en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, a menos que se indique claramente lo contrario, significan "al menos uno". Las reivindicaciones o las descripciones que incluyen "o" entre uno o más miembros de un grupo se consideran satisfechas si uno, más de uno, o la totalidad de los miembros del grupo están presentes en, se emplean en, o son pertinentes de otro modo para un producto o proceso dado a menos que se indique lo contrario o sea evidente de otro modo a partir del contexto. La invención incluye realizaciones en las que exactamente un miembro del grupo está presente en, se emplea en, o es pertinente de otro modo para un producto o proceso dado. La invención también incluye realizaciones en las que más de uno, o la totalidad de los miembros del grupo están presentes en, se emplean en, o son pertinentes de otro modo para un producto o proceso dado.

Además, se ha de entender que la invención incluye todas las variaciones, combinaciones, y permutaciones en las que una o más limitaciones, elementos, cláusulas, términos descriptivos, etc., de una o más de las reivindicaciones enumeradas (o de la parte de la memoria descriptiva pertinente para tal reivindicación o elemento de reivindicación) se introduce en otra reivindicación. Por ejemplo, y sin limitación, cualquier reivindicación que sea dependiente de otra reivindicación se puede modificar para incluir uno o más elementos o limitaciones que se encuentren en cualquier otra reivindicación (o de la parte de la memoria descriptiva pertinente para tal reivindicación o elemento de reivindicación) que sea dependiente de la misma reivindicación de base. Además, cuando las reivindicaciones o la descripción indiquen una composición, se ha de entender que se incluyen los métodos para administrar la composición de acuerdo con cualquiera de los métodos que se desvelan en el presente documento, y los métodos de uso de la composición para cualquiera de los fines que se desvelan en el presente documento, y se incluyen métodos de preparación de la composición de acuerdo con cualquiera de los métodos de preparación que se desvelan en el presente documento, a menos que se indique de otro modo o a menos que sea evidente para el experto habitual en la materia que pudiera surgir una contradicción o inconsistencia. La invención incluye todas las variaciones, combinaciones, y permutaciones en las que uno o más elementos, cláusulas, términos descriptivos, etc., de una o más de las reivindicaciones enumeradas se introduce en otra reivindicación dependiente de la misma reivindicación de base a menos que se indique de otro modo o a menos que sea evidente para el experto habitual en la materia que pudiera surgir una contradicción o inconsistencia.

35 Cuando los elementos están presentes en forma de listas, por ejemplo, en formato de grupo Markush o similar, se ha de entender que también se desvela cada subgrupo de los elementos, y se puede retirar cualquier elemento del grupo. En general, se ha de entender que cuando la invención, o los aspectos de la invención, se refieren a que comprenden elementos, rasgos, etc., particulares, ciertas realizaciones de la invención o aspectos de la invención consiste en, o consisten básicamente en, tales elementos, rasgos, etc. Con fines de simplicidad esas realizaciones no se han expuesto específicamente *in haec verba* en el presente documento en todos los casos.

45 La inclusión de una etapa de "provisión de un sujeto..." en ciertas realizaciones de la invención se pretende que indique que la composición se administra para tratar un trastorno ocular. De ese modo el sujeto tendrá o se encontrará en riesgo de un trastorno ocular y la composición se administra para tratar el trastorno, por lo general después de la recomendación bien fundada de un médico o practicante quirúrgico, por ejemplo, un oftalmólogo, que puede ser o no ser el mismo individuo que administra la composición. La invención incluye realizaciones en las que no se incluye de forma explícita una etapa de provisión y realizaciones en las que se incluye una etapa de provisión.

50 La invención también incluye realizaciones en las que se incluye una etapa de identificación del sujeto que se encuentra en riesgo de o que padece un trastorno ocular caracterizado por degeneración macular, CNV, o RNV.

55 Cuando se dan intervalos, se incluyen los extremos y la invención incluye realizaciones en las que se excluyen cualquiera de los dos o ambos extremos. Además, se ha de entender que a menos que se indique de otro modo o sea evidente de otro modo partir del contexto y el entendimiento del experto habitual en la materia, los valores expresados en forma de intervalos pueden adoptar cualquier valor o subintervalo específico dentro de los intervalos indicados en diferentes realizaciones de la invención, hasta la décima de la unidad del límite inferior del intervalo, a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo.

REIVINDICACIONES

1. Primer y segundo agentes terapéuticos para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular caracterizado por degeneración macular, neovascularización coroidal o neovascularización retiniana, en el que se administran cantidades eficaces del primer y el segundo agentes terapéuticos al ojo del sujeto, opcionalmente en un procedimiento individual;
- 5 el primer agente terapéutico es un agente anti-VEGF seleccionado entre el grupo que consiste en anticuerpos o fragmentos de anticuerpo que se unen a VEGF, una proteína de fusión que contiene dominios extracelulares de dos receptores de VEGF conectados a la región Fc de un anticuerpo, y ácidos nucleicos que se unen a VEGF; y
- 10 el segundo agente terapéutico se selecciona entre el grupo que consiste en un análogo de compstatina que tiene una actividad inhibidora del complemento al menos 5 veces mayor que la compstatina, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo monoclonal que se une a C3 y un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a C5, factor B o factor D.
- 15 2. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el análogo de compstatina es
- a) un compuesto que comprende un péptido cíclico que tiene una secuencia principal de X'aa-Gln - Asp - Xaa - Gly (SEQ ID NO: 3), donde X'aa y Xaa se seleccionan entre Trp y análogos de Trp, o
- 20 b) un compuesto que comprende un péptido cíclico que tiene una secuencia principal de X'aa-Gln - Asp - Xaa - Gly-X"aa (SEQ ID NO: 4), donde X'aa y Xaa se seleccionan cada uno independientemente entre Trp y análogos de Trp y X"aa se selecciona entre His, Ala, aminoácidos sin ramificar con un solo metilo, Phe, Trp, y análogos de Trp, o
- 25 c) un compuesto que comprende un péptido cíclico que tiene una secuencia de X'aa1 - X'aa2 - X'aa3 - X'aa4-Gln-Asp-Xaa-Gly- X"aa1- X"aa2- X"aa3- X"aa4- X"aa5 (SEQ ID NO: 5), donde X'aa4 y Xaa se seleccionan entre Trp y análogos de Trp, en la que X'aa1, X'aa2, X'aa3, X"aa1, X"aa2, X"aa3, X"aa4, y X"aa5 se seleccionan independientemente entre aminoácidos y análogos de aminoácido, y el péptido está ciclado a través de un enlace entre X'aa2 y X"aa4.
- 30 3. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el procedimiento es un procedimiento de inyección, tal como un procedimiento de inyección en el que el primer y el segundo agentes terapéuticos se inyectan en el humor vítreo del ojo del sujeto y/o un procedimiento de inyección en el que, antes de la administración, el primer agente terapéutico está contenido en una jeringa y el segundo agente terapéutico está contenido en una aguja unida a la jeringa y en el que, preferentemente, el primer agente terapéutico
- 35 está disuelto en un medio líquido situado en la jeringa y el segundo agente terapéutico comprende un implante ocular situado en la aguja.
4. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el primer agente terapéutico o composición se selecciona entre el grupo que consiste en bevacizumab, ranibizumab, pegaptanib y Trampa de VEGF.
- 40 5. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el primer agente terapéutico o composición está disuelto o suspendido en un medio líquido antes de la administración y/o el segundo agente terapéutico comprende un implante ocular, en el que opcionalmente el segundo agente terapéutico se libera desde el implante ocular de un modo tal que mantenga un nivel terapéutico en el ojo del sujeto durante un período de al menos tres meses.
- 45 6. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el segundo agente terapéutico se administra en forma de una formulación de liberación sostenida que comprende un material polimérico tal como un material polimérico seleccionado entre el grupo que consiste en: poli-ácido láctico (PLA), poli-ácido glicólico (PGA), poli-lactida-co-glicólido (PLGA)5 poli(fosfazina), poli(éster de fosfato), policaprolactonas, polianhídridos, etileno acetato de vinilo, poliortoésteres, poliéteres, poli(beta amino ésteres), copolímeros que contienen subunidades monoméricas encontradas en cualquiera de los polímeros anteriores, colágeno, albúmina, quitosano, alginato, ácido hialurónico, y las mezclas de cualquiera de los polímeros anteriores y preferentemente el
- 50 material polimérico es biodegradable.
7. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el segundo agente terapéutico se administra en forma de una formulación de liberación sostenida que comprende nanopartículas, micropartículas, dendrímeros, o liposomas que comprenden el segundo agente terapéutico, un material sólido o semisólido que atrapa o encapsula el segundo agente terapéutico, o un material inactivo al que está unido covalentemente el segundo agente terapéutico.
- 60 8. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el primer agente terapéutico se administra en forma soluble o de partículas en un medio líquido y el segundo agente terapéutico se administra en o unido a una matriz sólida o semisólida y/o en el que el segundo agente terapéutico,
- 65

cuando se administra en forma de un componente de una formulación de liberación sostenida, tiene un período de actividad mayor que el del primer agente terapéutico.

5 9. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la administración del segundo agente terapéutico prolonga el intervalo de tiempo durante el que el sujeto experimenta una mejora en el estado del ojo del sujeto con respecto al intervalo de tiempo durante el que el sujeto habría experimentado una mejora si el primer agente terapéutico se hubiera administrado como terapia única.

10 10. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el trastorno ocular es degeneración macular relacionada con la edad exudativa.

15 11. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el sujeto ha experimentado un empeoramiento perceptible en el estado del ojo del sujeto en las dos semanas precedentes a la administración del primer y el segundo agentes terapéuticos.

12. El primer y el segundo agentes terapéuticos para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el procedimiento se lleva a cabo una o más veces adicionales a intervalos de tiempo mayores que el período de actividad del primer agente terapéutico.

20 13. Artículo de fabricación que comprende el primer y el segundo agentes terapéuticos de la reivindicación 1, en el que el artículo de fabricación comprende una aguja que contiene el segundo agente terapéutico, en el que el artículo de fabricación comprende además opcionalmente una jeringa, tal como una jeringa que contiene el primer agente terapéutico y/o en el que el artículo de fabricación contiene una forma de dosificación unitaria del primer agente terapéutico y/o una forma de dosificación unitaria del segundo agente terapéutico.

25 14. El artículo de fabricación de la reivindicación 13, que comprende además una jeringa, en el que el artículo de fabricación contiene al menos un compartimento y la jeringa y la aguja están alojadas en un único compartimento del artículo de fabricación y/o en el que la jeringa y la aguja están unidas entre sí o en el que el artículo de fabricación contiene al menos dos compartimentos, y en el que la jeringa y la aguja están alojadas en compartimentos individuales.

30 15. Artículo de fabricación que comprende el primer y el segundo agentes terapéuticos de la reivindicación 1, en el que cada agente terapéutico está contenido en una jeringa individual y en el que el artículo de fabricación comprende además opcionalmente una aguja.

35

Segmento anterior

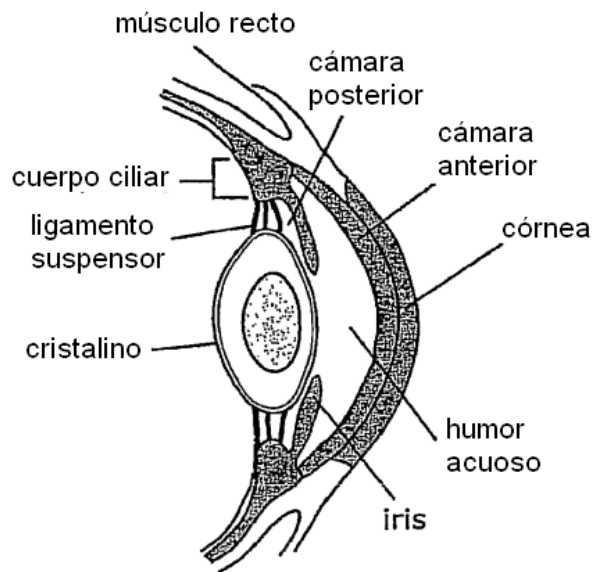


FIG. 1A

Segmento posterior

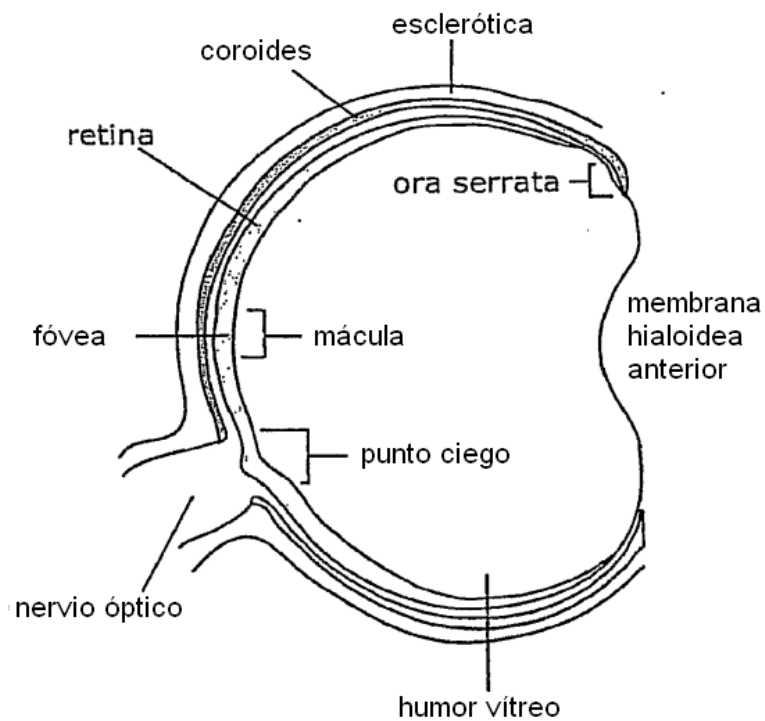


FIG. 1B

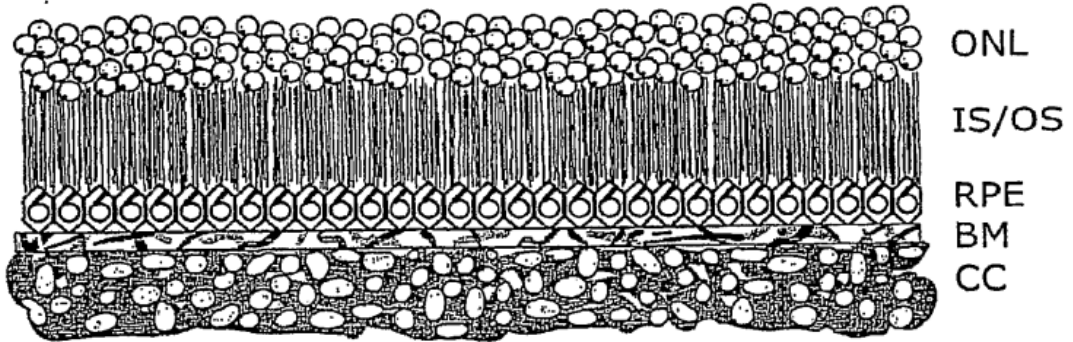


FIG. 1C

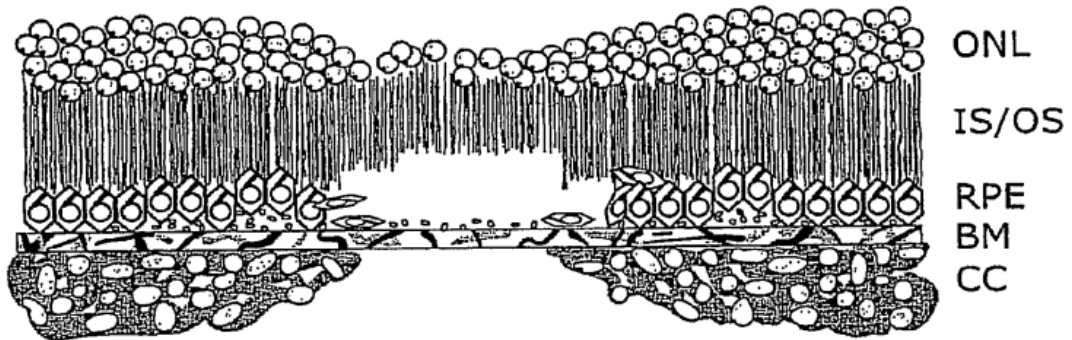


FIG. 1D

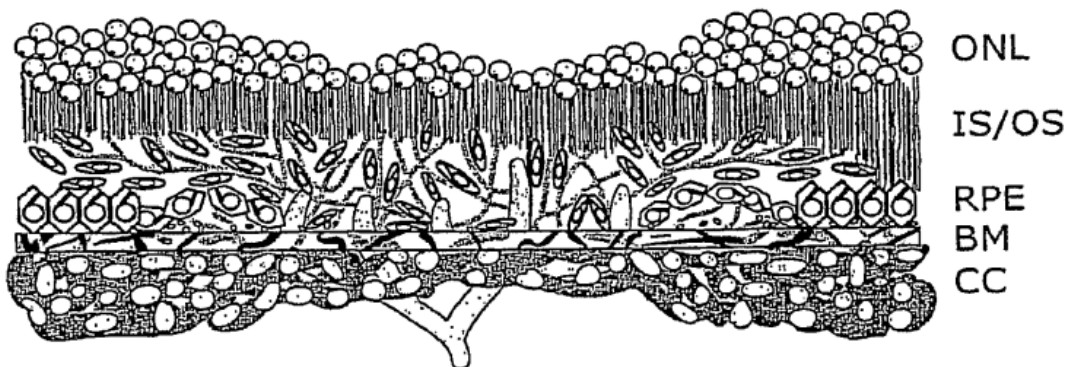


FIG. 1E

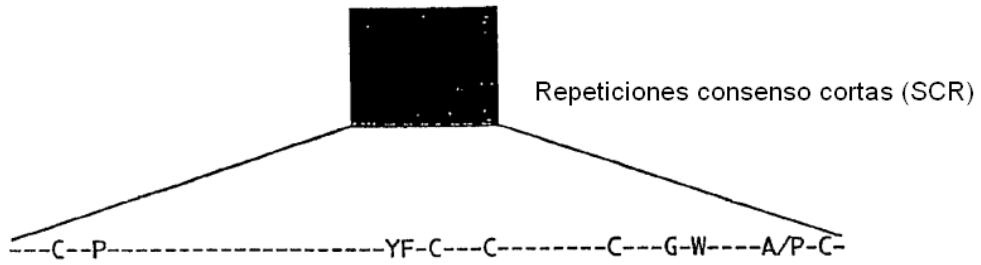


FIG. 2

Precursor de la proteína de control del complemento del virus vacuna: Número de registro P10998

```

mkvesvtflt llgigcvlsc ctipsrpinm kfknsvetda nanynigdti eylclpgyrk
qkmgpiyakc tgtgwtlfnq cikrrcpspr didngldig gvdfgssity scnsgyhlig
esksyccelgs tgsnmwnpea picesvkcqs ppsisngrhn gyedfytdgs vvtyscnsy
slignsgvlc sggewsdppt cqivkcphpt isngylssgf krsysyndnv dfkckygykl
sgssstcsp gntwkpelpk cvr
    
```

FIG. 3A

Proteína de control del complemento del virus vacuna: Número de registro 1RID_B

```

cctipsrpin mkfknsvetd ananynigdt ieylclpgyr kqkmgpiyak ctgtgwtlfn
qcikrrcpsp rdidngldi ggvdgssit yscnsgyhli gesksyccelg stgsmwnpe
apicesvkcq sppsisngrh ngyedfytdg svvtyscnsy yslignsgvl csggewsdp
tcqivkcphp tisngylssg fkrsysyndn vdfkckygyk lsgssstcs pgntwkpelp
kcvr
    
```

FIG. 3B

VAC-COP C3L	CCTIPSRPINMKFKNSVETDANANYNIGDTIEYLCLPGYRKQKMGPIYAKCTGTGWTLFNQCI
VAC-WR C21L
CPV-GRI C17L	.P.....T...GT...-SH.....
CPV-BRI IMPG.....
VAR-BSH D15LT.....
VAR-IND D12L
VAR-GAR B18L
MPV-ZAI D15L	Y.....
VAC-COP C3L	KRRCPSPROIDNGQLDIGVDFGSSITYSCNSGYHLIGESKSYCELSTGSMVMNPEAPICE
VAC-WR C21L
CPV-GRI C17L
CPV-BRI IMP	.K.....I.....E.....Q.....Y.....
VAR-BSH D15LH.....Y.....Y.....K.....K.....
VAR-IND D12LH.....Y.....Y.....K.....K.....
VAR-GAR B18LH.....Y.....Y.....K.....K.....
MPV-ZAI D15L
VAC-COP C3L	SVKQSPPSISNGRHNGYEDFYTDGVSVVTYSCNSGYSLIGNSGVLCSSGGENSDPPTCQ
VAC-WR C21L
CPV-GRI C17L
CPV-BRI IMP	...P...VT.....IV.....
VAR-BSH D15LL.....N.....N.....
VAR-IND D12LL.....N.....N.....
VAR-GAR B18LL.....N.....N.....
MPV-ZAI D15LI.....I.....M.....N.....
VAC-COP C3L	IVKCPHTISNGYLSGGFKRSYSYNDNVDKCKYGYKLSGSSSSTCSPGNTWKPELPKCVR
VAC-WR C21L
CPV-GRI C17LS.T.....H.....RH.....Q.....Q.....
CPV-BRI IMPL.....T.....T.....Q.....Q.....
VAR-BSH D15LL.....T.....T.....Q.....Q.....
VAR-IND D12LY...L.....T.....T.....Q.....Q.....
VAR-GAR B18L-.....K.LAA.....
MPV-ZAI D15L

FIG. 4

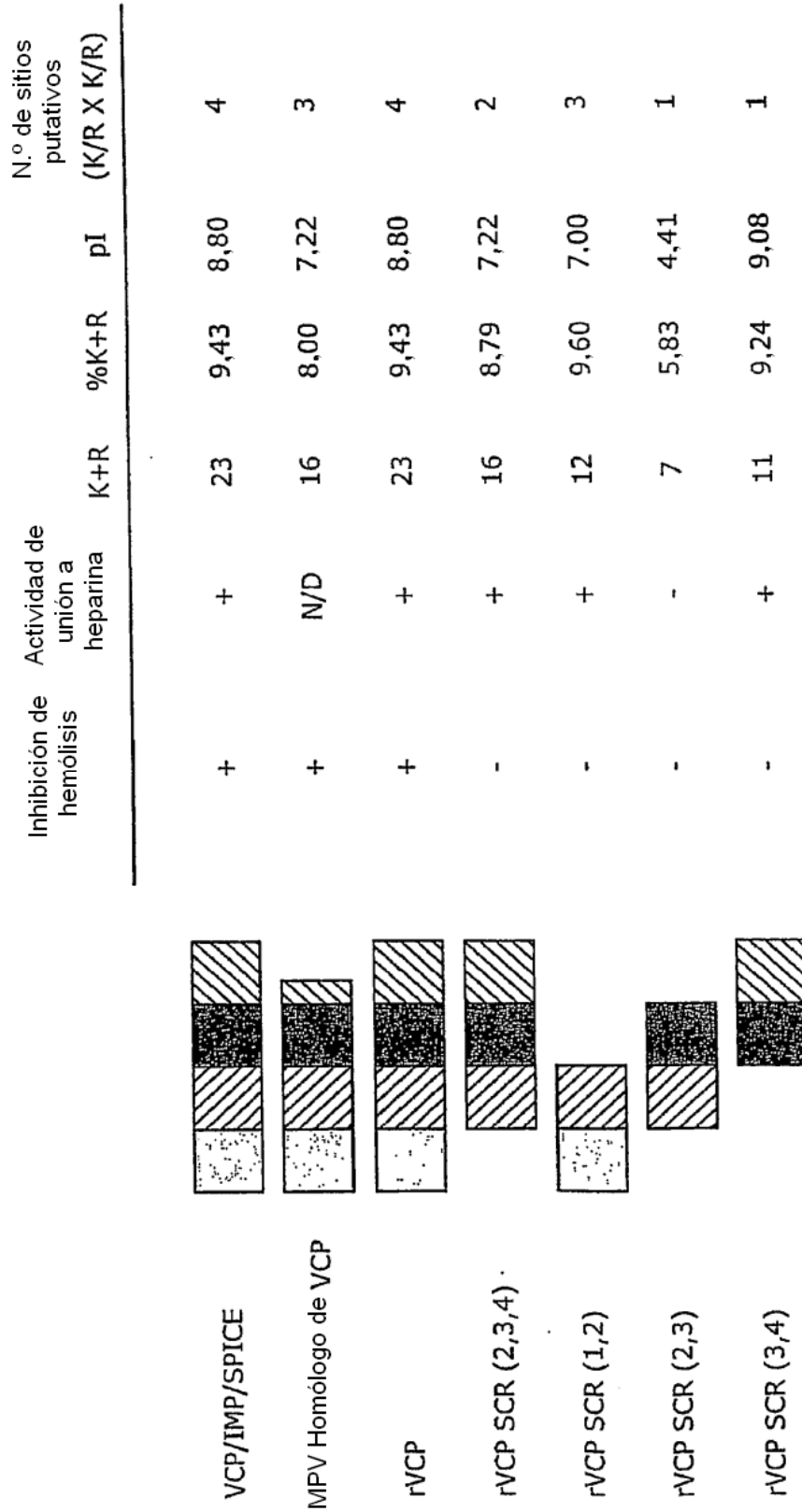
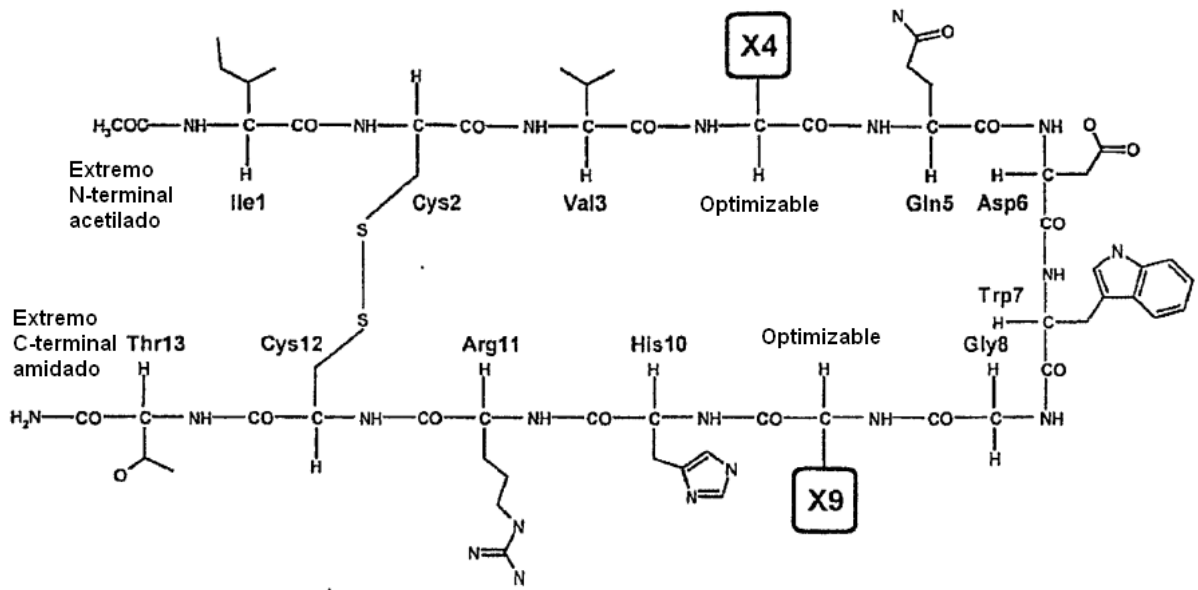


FIG. 5

MKVERVTFLTLLGIGCVLSCCTIPSRPINMKFKNSVETDANANYNIGDTIEYLCL
PGYRKQKMGPYAKCTGTGWTLFNQCIKRRCPSPRDIDNGHLDIGGVDFGSSIT
YSCNSGYLIGEYKSYCKLGSTGSMVWNPKAPICESVKCQLPPSISNGRHNGY
NDFYTDGSVVTYSCNSGYSLIGNSGVLCSSGGEWSNPPTCQIVKCPHPTILNGYL
SSGFKRSYSYNDNVDFCKYGYKLSGSSSSTCSPGNTWQPELPCVR

FIG. 6



Ac-Compstatina-NH2

Ac-V4(2Na)/H9A-NH2

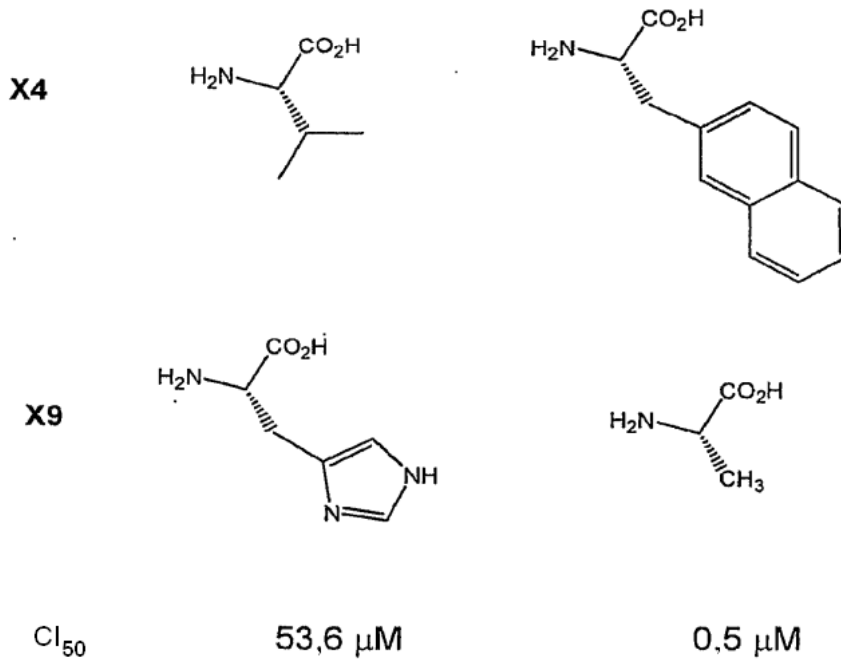


Figura 7

Figura 8

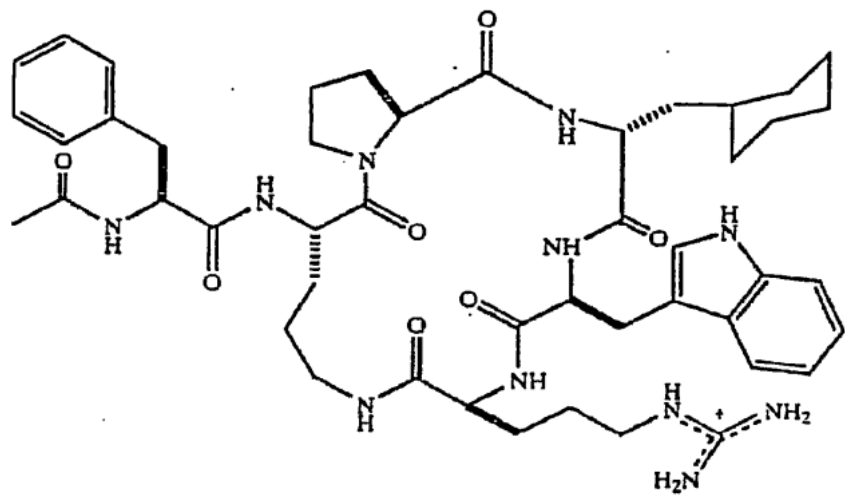
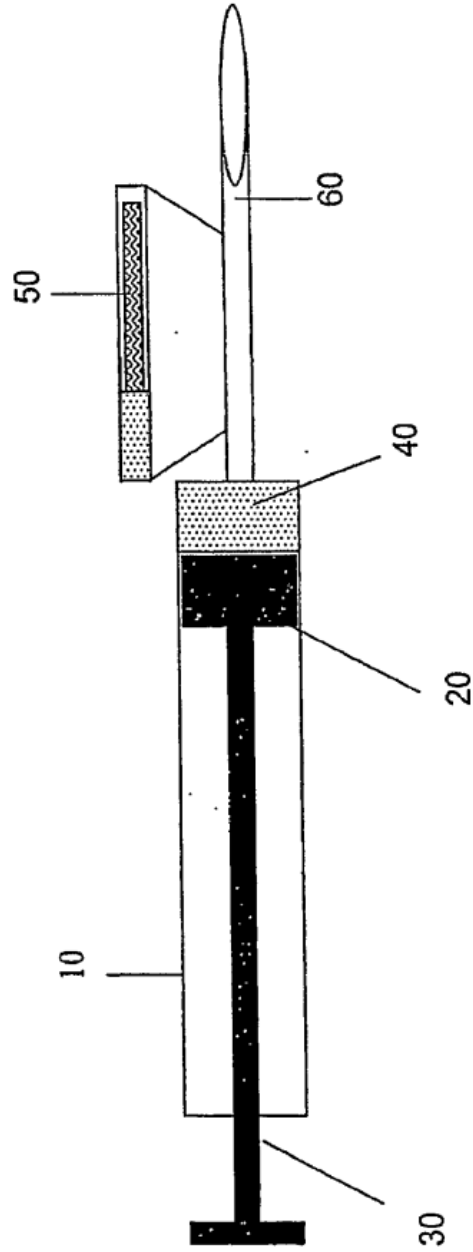


Figura 9



- 10 Jeringa (barril)
- 20 Tope
- 30 Émbolo
- 40 Primer agente terapéutico (por ejemplo, fármaco antiangiogénico)
- 50 Implante ocular que contiene el segundo agente terapéutico (por ejemplo, inhibidor del complemento)
- 60 Aguja de inyección