

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 764 840**

51 Int. Cl.:

A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/395 (2006.01)
A61K 31/4995 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2015** **E 15152886 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2019** **EP 3050574**

54 Título: **Uso de plerixafor para tratar y/o prevenir exacerbaciones agudas de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.06.2020

73 Titular/es:

UNIVERSITE DE BORDEAUX (33.3%)
35, Place Pey Berland
33000 Bordeaux, FR;
INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA
RECHERCHE MEDICALE - INSERM (33.3%) y
CENTRE HOSPITALIER DE BORDEAUX (33.3%)

72 Inventor/es:

BERGER, PATRICK;
DUPIN, ISABELLE y
GIRODET, PIERRE-OLIVIER

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 764 840 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

Uso de plerixafor para tratar y/o prevenir exacerbaciones agudas de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Campo de la invención

5 La invención se refiere a nuevas composiciones y métodos para la prevención y/o el tratamiento de la enfermedad obstructiva pulmonar crónica (EPOC) y las exacerbaciones agudas de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EAEPOC).

Antecedentes de la invención

10 La EPOC es una enfermedad de las vías respiratorias muy frecuente que afecta a más de 200 millones de personas en el mundo. El principal factor de riesgo para la EPOC es el consumo de tabaco. En la actualidad, la EPOC es la cuarta causa principal de muerte, pero la mortalidad puede llegar a ser la tercera causa de muerte en 2020. La enfermedad se caracteriza por una inflamación bronquial crónica y la remodelación de las vías respiratorias distales y, en particular, por una fibrosis bronquial y peribronquial, que conduce a una limitación persistente del flujo de aire. La solicitud de patente internacional WO2013/052844 describe composiciones de iones de calcio opcionalmente combinadas con agentes terapéuticos para tratar una larga lista de enfermedades respiratorias que incluyen, entre otras, la EPOC. Además, la solicitud de patente internacional WO2014/132100 describe el uso de combinaciones de agentes potenciadores de HIF- α y un movilizador de células madre hematopoyéticas y/o células progenitoras, tales como G-CSF o plerixafor, para potenciar la hematopoyesis o para el trasplante de células madre, para tratar/prevenir un trastorno inmunocomprometido y/o para tratar enfermedades autoinmunitarias que incluyen, entre otras, la EPOC. Además, AstraZeneca describe en el sitio web: <https://ncats.nih.gov/files/AZD2423>, el compuesto AZD2423, que es un antagonista del receptor 2 de quimioquinas CC (CCR2) que está en fase clínica para el tratamiento, entre otras, de la EPOC. Por último, se han descrito antagonistas del receptor 3 de quimioquinas (CCR3), tales como SB328437, en la publicación de patente US 2012/088769 y el extracto Mao, Yong *et al.* (Shanghai Yixue, vol. 30, n.º 9, 2007, pp. 707-709), para tratar la rinitis alérgica.

25 Sin embargo, el curso crónico de la EPOC se ve agravado con frecuencia por exacerbaciones agudas (EAEPOC), casi siempre relacionadas con infecciones víricas o bacterianas. Estas EAEPOC están asociadas con un estallido de inflamación neutrófila y a veces eosinófila. Las EAEPOC afectan a casi 80% de los pacientes con EPOC a lo largo de un periodo de 3 años, y la frecuencia de las exacerbaciones está relacionada principalmente con la presencia de exacerbaciones previas.

30 Las EAEPOC provocan unos costes sanitarios enormes, en especial relacionados con las hospitalizaciones. Las EAEPOC tienen un impacto notable sobre la calidad de vida y desempeñan un papel en el agravamiento de la enfermedad: la función pulmonar disminuye con más rapidez en pacientes con exacerbaciones frecuentes, con fibrocitos de sangre periférica en pacientes durante las exacerbaciones de la EPOC y se ha comprendido la necesidad de desarrollar nuevas terapias alrededor de este concepto. En particular, se ha demostrado que los fibrocitos que expresan CXCR4, CCR3, y CCR2, los receptores de quimioquinas para CXCL12, CCL11, CCL7, CCL13 y CCL2, aumentan significativamente en pacientes durante las exacerbaciones de la EPOC (EAEPOC), y que estos fibrocitos específicos se correlacionan en gran medida con la mortalidad y una baja función pulmonar. Lo más importante, los solicitantes han identificado con éxito una nueva vía de descubrimiento de fármacos y nuevos fármacos para el tratamiento y/o la prevención de la EPOC demostrando que los antagonistas de las parejas de receptor/ligando CCR2/CCL2, CCR2/CCL7, CCR2/CCL13, CXCR4/CXCL12 y/o CCR3/CCL11 son útiles para el tratamiento y/o la prevención de la EPOC y las EAEPOC para prevenir el reclutamiento/migración de fibrocitos en pacientes durante una EAEPOC.

Sumario de la invención

La presente invención se limita al contenido definido en las reivindicaciones. La siguiente descripción está sometida a esta limitación.

45 Breve descripción de la figuras

La figura 1 muestra el diseño del estudio con el número de pacientes que se incluyeron y su nivel de fibrocitos cuantificado.

50 Las figuras 2A-F son gráficas que muestran el porcentaje de células CD45+ Coll+ en células mononucleares de sangre periférica ("Peripheral Blood Mononuclear Cell", PBMC) (A) y la concentración de fibrocitos en la sangre (B) de sujetos control ("Cont", n = 38), pacientes con EPOC no exacerbante ("NEx", n = 9), pacientes con EPOC exacerbante ("V1", n = 48), *: P <0,05, ***: P <0,001, ensayo de Kruskal Wallis no paramétrico. Porcentaje de células CD45+ CD34+ Coll+ en PBMC (C) y concentración de fibrocitos en la sangre (D) de sujetos control ("Cont", n = 25), pacientes con EPOC exacerbante ("NEx", n = 8), pacientes con EPOC exacerbante ("V1", n = 29), *: P <0,05, **: P <0,01, ensayo de Kruskal Wallis no paramétrico. Las medianas se representan como líneas horizontales (A-D). Porcentaje de células CD45+ Coll+ (E) y concentración de células CD45+ Coll+ en la sangre (F) en cada paciente con EPOC exacerbante en el momento de la exacerbación (V1) y 2 meses después de (V2), ** P <0,01, ensayo de

parejas apareadas de Wilcoxon.

Las figuras 3A-F representan un análisis de la supervivencia de Kaplan-Meier de sujetos con EPOC exacerbante, separado por el porcentaje umbral de células CD45+ Coll+ en PBMC de 28 sujetos medido en el momento de la exacerbación (V1). De los 42 sujetos con datos de supervivencia disponibles, 36 presentaban unos valores por debajo del umbral (curva gris) y 6 por encima del umbral (curva negra). Porcentaje de células CD45+ Coll+ en PBMC como predictores de la mortalidad en sujetos con EPOC (A). B-F, relaciones entre FEV1 (B), FVC (C), FEV1/CVF (D), TLCO (E), pO₂ (F) y el porcentaje de células CD45+ Coll+ en PBMC en pacientes con EPOC exacerbante en V2. FEV1: volumen espiratorio forzado ("Forced Expiratory Volume") en el primer segundo; FVC: capacidad vital forzada ("forced vital capacity"); TLCO: factor de transferencia de monóxido de carbono; Pao₂: presión parcial del O₂ en sangre arterial. Se obtuvieron el coeficiente de correlación (r) y el nivel de significancia (valor de p) usando un análisis de Spearman no paramétrico.

Las figuras 4A-J son gráficas que muestran el porcentaje de células que expresan CXCR4 (A), CCR2 (C), CCR3 (E), CCR5 (G) y CCR7 (I) en fibrocitos de sujetos control ("Cont"), y pacientes con EPOC exacerbante ("V1"). Concentración de fibrocitos CXCR4+ (B), CCR2+ (D), CCR3+ (F), CCR5+ (H) o CCR7+ (J) en la sangre de sujetos of control, pacientes con EPOC no exacerbante, y pacientes con EPOC exacerbante. *: P <0,05, *** P <0,001, ensayo de Mann Whitney.

Las figuras 5A-D muestran A) la migración de fibrocitos de sujetos control (n = 6, barras grises) y pacientes con EPOC exacerbante (n = 6, barras negras) en respuesta al plasma de pacientes con EPOC exacerbante en presencia (+) o en ausencia (-) de plerixafor 25 µg/ml. * P<0,05, ensayo de la t apareado. B) CXCL12 en plasma en sujetos individuales. Los símbolos indican sujetos individuales, y las líneas horizontales representan las medianas. C) Migración de fibrocitos en sujetos control (n = 8, barras grises) y pacientes con EPOC exacerbante (n = 5, barras negras) en respuesta a CXCL12. ** P<0,01, ANOVA de dos vías con ensayo de Bonferroni post hoc. D) Migración de fibrocitos de pacientes control (n = 6; barras grises) y pacientes con EPOC exacerbante (n = 7; barras negras) en respuesta a CXCL12 en presencia (+) o en ausencia (-) de plerixafor 25 µg/ml. * P<0,05, ensayo de la t apareado.

La figura 6 es una gráfica que muestra el porcentaje de células CD45+ Coll+ en PBMC de pacientes con EPOC exacerbante en V2 sin visita programada (n = 4), con una visita no programada (n = 8), o con dos o más visitas no programadas (n = 14) el año anterior a V1. Las medianas se representan como líneas horizontales grises. **: p <0,01, ensayo de Kruskal Wallis no paramétrico con múltiples ensayos de z.

La figura 7 muestra las relaciones entre FEV1 (L) (A), FVC (L) (B), FEF 25-75 (%) (C), FEF 25-75 (L/s) (D) y el porcentaje de células CD45+ Coll+ en PBMC en pacientes con EPOC exacerbante en V2. FEV1: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FVC: capacidad vital forzada; FEF 25-75: promedio del flujo espiratorio forzado ("forced expiratory flow") durante la porción intermedia (25-75%) del FVC. Se obtuvieron el coeficiente de correlación (r) y el nivel de significancia (valor de p) usando un análisis de Spearman no paramétrico.

Las figuras 8A-D son gráficas que muestran en (A) la migración de fibrocitos de sujetos control (n = 1, barras grises) y pacientes con EPOC exacerbante (n = 5, barras negras) en respuesta al plasma de pacientes con EPOC exacerbante en presencia (+) o en ausencia (-) de SB 328437 10 µM. (B) CCL11 en plasma en sujetos individuales. Los símbolos indican sujetos individuales, y las líneas horizontales representan las medianas. (C) Migración de fibrocitos en sujetos control (n = 2, barras grises) y pacientes con EPOC exacerbante (n = 5, barras negras) en respuesta a CCL11. (D) Migración de fibrocitos de pacientes control (n = 2) y pacientes con EPOC exacerbante (n = 5) en respuesta a CCL11 en presencia (+) o en ausencia (-) de SB 328437 10 µM.

Descripción detallada

Los solicitantes han investigado en un estudio clínico las concentraciones de fibrocitos de sangre periférica en pacientes con EPOC durante una exacerbación y después de la exacerbación en el estado estable, en comparación con sujetos control. También se investigaron las propiedades de migración de estos fibrocitos en pacientes con EPOC y sujetos control.

Los solicitantes han descubierto un número mayor significativo de fibrocitos en la circulación en pacientes durante EAEPOC, comparado con sujetos control, y que el número de fibrocitos en la circulación disminuye en los mismos pacientes dos meses después de EAEPOC. Los solicitantes también han demostrado que un alto porcentaje de fibrocitos en la circulación durante la exacerbación está asociado con un aumento del riesgo de muerte, y que el porcentaje de fibrocitos después de EAEPOC se correlaciona negativamente con varios parámetros de enfermedad pulmonar obstructiva (concretamente, FEV1, FVC, FEV1/FVC, TLCO y PaO₂). En particular, los solicitantes han descubierto que los fibrocitos expresan, en particular, CXCR4, CCR2 y CCR3, los receptores de quimioquinas para CXCL12, CCL2, CCL7, CCL13, y CCL11, respectivamente.

Los antagonistas de los receptores de quimioquinas CXCR4, CCR2, y CCR3, tales como plerixafor, un antagonista de CXCR4, disminuyen la migración de fibrocitos hacia el plasma de pacientes con EPOC exacerbante y, por tanto, pueden ser útiles según la presente invención para tratar y/o prevenir la EPOC y las EAEPOC.

Por tanto, la presente invención proporciona compuestos, composiciones farmacéuticas y métodos de uso de ciertos

compuestos que son antagonistas o inhibidores de las parejas de receptor/ligando CCR2/CCL2, CCR2/CCL7, CCR2/CCL13, CXCR4/CXCL12 y/o CCR3/CCL11 para su uso en tratamiento y/o la prevención de la EPOC o las EAPOC. Los compuestos preferidos según la invención interfieren con la unión de los ligandos nativos al receptor CCR2 y/o CCR3 y/o CXCR4 e inhiben la activación del receptor y las posteriores vías de señalización corriente abajo.

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una importante causa de morbilidad y mortalidad en el mundo. Es una enfermedad común prevenible y tratable, que se caracteriza por una limitación persistente del flujo de aire que habitualmente es progresiva y está asociada con una respuesta inflamatoria crónica potenciada en las vías respiratorias y el pulmón frente a partículas o gases nocivos. Las exacerbaciones y comorbidades contribuyen a la gravedad global en pacientes individuales. Existen varias lesiones anatómicas que contribuyen al flujo de aire reducido que aparece en pacientes con EPOC. Estas incluyen la acumulación de secreciones mucosas, la fibrosis peribronquiolar, el estrechamiento de las vías respiratorias pequeñas y la destrucción de las paredes alveolares, que es la característica definitoria del enfisema.

Las quimioquinas son una familia de mediadores proinflamatorios que estimulan el reclutamiento y la activación de múltiples linajes de leucocitos (por ejemplo, linfocitos, macrófagos). Estas pueden ser liberadas por muchos tipos de células tisulares después de la activación. La liberación continua de quimioquinas en los sitios de inflamación puede mediar en la migración y el reclutamiento en curso de células efectoras hacia los sitios de inflamación crónica. Las quimioquinas están relacionadas con respecto a su estructura primaria y conservan cuatro cisteínas conservadas, que forman enlaces disulfuro. Basándose en este motivo de cisteínas conservado, la familia puede dividirse en ramas diferenciadas, que incluyen las quimioquinas C-X-C (α -quimioquinas), y las quimioquinas C-C (β -quimioquinas).

El receptor de quimioquinas CCR2 se refiere al símbolo del gen aprobado por HUGO Gene Nomenclature Committee para el receptor 2 de quimioquinas (motivo C-C). El ID de HGNC para este gen es 1603. El gen está localizado en la posición cromosómica 3p21. El símbolo y el nombre previos para el gen es CMKBR2. Los sinónimos de este gen incluyen CC-CKR-2, CD192, CKR2, FLJ78302, MCP-1-R. La secuencia de referencia de NCBI es NM001123041.2 (ácido nucleico) y NP001116513.2 (aminoácidos). El CCR2 es un receptor para CCL2, CCL7 y CCL13. El receptor media en la movilización de calcio dependiente de agonista y en la inhibición de la adenilil ciclasa. Dos variantes de transcritos cortados y empalmados de modo alternativo son expresados por el gen CCR2 humano. El primer variante (A) codifica una isoforma citoplásmica. Se corta y empalma de modo alternativo en la región codificadora que produce un desplazamiento de marco y el uso de un codón de fin cadena abajo, comparado con el variante B. Todos los variantes e isoformas están dentro del alcance de la invención.

El ligando 2 de quimioquina (motivo C-C) (CCL2) también se denomina proteína quimiotáctica de monocitos 1 ("monocyte chemotactic protein 1", MCP1) y citoquina inducible pequeña A2. El CCL2 es una citoquina pequeña que pertenece a la familia de quimioquinas CC. El CCL2 recluta monocitos, células T de memoria y células dendríticas hacia los sitios de inflamación producidos por lesiones o infecciones en tejidos.

El CCL7 (proteína quimioatrayente de monocitos-3, "monocyte chemoattractant protein-3", MCP-3) es un miembro de la familia de quimioquinas CC (β -quimioquinas) que se caracteriza por dos restos cisteína adyacentes en el amino terminal de la proteína madura. Es un ligando para la unión a CCR2. El número de registro de MCP-3 es X72308

El CCL13, también conocido como proteína quimioatrayente de monocitos-4 ("Monocyte Chemoattractant Protein-4", MCP-4), es una quimioquina CC que actúa como quimioatrayente para monocitos, eosinófilos y células T y como activador de basófilos. Señaliza a través de los receptores CCR2 y CCR3. La secuencia de la MCP-4 humana (hMCP-4) se publicó por primera vez en 1996 (Ugucioni *et al.*, 1996, Monocyte Chemotactic Protein 4 (MCP-4), A Novel Structural and Functional Analogue of MCP-3 and Eotaxin, *J. Exp. Med.*, 183:2379-2394). La MCP-4 humana es un péptido de 8,6 kDa que consiste en 75 restos aminoácidos (figura 3). También se conoce como CK- β -10, SCY-A13 y NCC-1 (número de registro de Swiss-Prot Q99616) y se cambió el nombre a CCL13 en la nueva nomenclatura de quimioquinas (Zlotnik *et al.*, 2000, *Immunity*, 12:121-127). El CCL13 tiene el número de registro de SWISSPROT Q99616; segmento 34-58.

El receptor de quimioquinas CCR3 se refiere al símbolo del gen aprobado por HUGO Gene Nomenclature Committee para el receptor 3 de quimioquinas (motivo C-C). El ID de HGNC para este gen es 1604. El gen está localizado en la posición cromosómica 3p21.3. El símbolo y el nombre previos para el gen es CMKBR3. Los sinónimos de este gen incluyen CC-CKR-3, CD193 y CKR3. La secuencia de referencia de Genbank para CCR3 es AF247361.1. Todos los variantes e isoformas están dentro del alcance de la invención.

El CCL11, también conocido como proteína quimiotáctica de eosinófilos y eotaxina-1, es el ligando de los receptores CCR2 y CCR3. Está codificado por el gen CCL11. Este gen está codificado sobre tres exones y está localizado sobre el cromosoma 17. Los receptores de quimioquinas para los cuales CCL11 es un ligando incluyen. El ID de HGNC para este gen es 10610. La secuencia de referencia de Genbank para CCL11 es AB063614.1.

El receptor de quimioquinas CXCR4 significa el receptor de quimioquinas C-X-C de tipo 4 (CXCR4). También se

conoce como fusina o agrupamiento de diferenciación 184 (CD184), que es un receptor acoplado a proteína G ("G-protein coupled receptor", GPCR) siete-transmembrana (TM) que pertenece a la familia de GPCR de clase I o GPCR similar a rodopsina. La estructura de CXCR4 consiste en 352 restos aminoácidos que comprenden un dominio N-terminal, siete dominios TM, tres bucles extracelulares ("extra-cellular loops", ECL), tres bucles intracelulares ("intra-cellular loops", ICL) y un dominio C-terminal.

El SDF-1, que se refiere al factor 1 derivado de células estromáticas ("stromal cell-derived factor 1"), es un ligando para CXCR4. También se conoce como CXCL12, y presenta dos isoformas diferentes, CXCL12- α y CXCL12- β . La secuencia de aminoácidos del SDF-1 α humano tiene el número de registro de GenBank NP954637. La secuencia de aminoácidos del SDF-1 β humano tiene el número de registro de GenBank NP000600. El humano SDF-1 también se describe en la patente de EE.UU. n.º 5.756.084 y la patente de EE.UU. n.º 5.563.048.

Está previsto que los antagonistas o inhibidores actúen como agentes terapéuticos que inhiben directa o indirectamente la actividad biológica de las parejas de receptor/ligado CCR2/CCL2, CCR2/CCL7, CCR2/CCL13, CXCR4/CXCL12 y/o CCR3/CCL11. Estos agentes pueden incluir moléculas pequeñas (orgánicas o inorgánicas), productos naturales, compuestos sintéticos, anticuerpos (por ejemplo, suero policlonal, monoclonal, quimérico, humanizado, humano), fragmentos de anticuerpos, tales como fragmentos de anticuerpos recombinantes, anticuerpos monocatenarios (scFv), dominios variables de anticuerpos individuales, proteínas de anticuerpos de dominio único (dAb), fragmentos de unión al antígeno, agentes de ácido nucleico, tales como antisentidos, ribozimas, ADNzimas, o ARN de interferencia ARNi, ARNip, o ARNhc, que actúan reduciendo la expresión de receptores de quimioquinas, proteínas, péptidos, derivados de péptidos, peptidomiméticos, carbohidratos o cualquier otro compuesto o composición que disminuya la actividad del receptor de quimioquinas mediante la reducción eficaz de la cantidad de CCR2 presente sobre una célula, o mediante la inhibición de las interacciones de los ligandos. Los compuestos antagonistas también pueden incluir variantes, isoformas, solvatos, hidratos, sales farmacéuticamente aceptables, tautómeros, estereoisómeros y profármacos de los compuestos antagonistas.

Los antagonistas del receptor de quimioquinas CCR2 evitan las funciones biológicas o la bioactividad asociadas con CCR2, sus isoformas o variantes, que incluyen CCR2A o CCR2B, en fibrocitos que presentan el receptor, o antagonistas que se unen a MCP-1/CCL2 o CCR2 o que evitan la unión de CCR2 con su ligando o ligandos cognados y, por tanto, inhiben las funciones biológicas de CCR2. En particular, los antagonistas de CCR2 pueden inhibir la unión de uno o más ligandos (por ejemplo, MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4, MCP-5, CCL2, CCL8, CCL16 y similares) a CCR2 y/o inhibir la transducción de señales mediada a través de CCR2 (por ejemplo, intercambio de GDP/GTP por proteínas G asociadas a CCR2, flujo de calcio intracelular), inhibiendo con ello los procesos mediados por CCR2 y las respuestas y funciones celulares.

Las moléculas que pueden antagonizar una o más funciones del CCR2 son muy conocidas en la técnica. Las composiciones según la presente invención pueden comprender antagonistas de CCR2 basados en moléculas pequeñas.

Como antagonistas de CCR2 se pueden citar AZD2423 (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT01200524, y Kalliomaki *et al.*, Pain, mayo de 2013, 154(5):761-617, doi: 10.1016/j.pain.2013.02.003. Epub, 13 de febrero de 2013); UCB102405 (<http://www.springer.com/978-3-7643-7195-1>); candidatos de Incyte Pharma INCB-8696 (Nature Reviews Drug Discovery, 8, 23-33 (enero de 2009), y Matera *et al.*, Expert Opin. Emerging Drugs (2012), 17(1):61-82); derivado de piridinilciclohexil-3-pirrolidinilo INCB-3284 (<http://investor.incyte.com/phoenix.zhtml?c=69764&p=irol-newsArticle&ID=525656>); derivado de benzodioxolhidroxilciclohexilo INCB3344 (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10008367>); CCX140 (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT01440257); derivado de D-eritro-pentitol MK-0812 (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT00239655); antagonista de CCR2 de (S)-3-aminopirrolidina PF-4136309 (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT01226797); PF-04634817 (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT01098877 y http://www.pfizer.com/sites/default/files/product-pipeline/pipeline_2013_1108.pdf); compuesto basado en lactama BMS-741672 (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT00699790), BMS-813160 o (S)-1-[(1S,2R,4R)-4-isopropil(metil)amino]-2-propilciclohexil]-3-(6-(trifluorometil)quinazolin-4-ilamino)pirrolidin-2-ona (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT01752985); JNJ-17166864 (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT00604123, y Antinflammatory Drug Discovery, editado por Jeremy I. Levin, Stefan Laufer, p. 378); ((1R,3S)-3-isopropil-3-[[3-(trifluorometil)-7,8-dihidro-1,6-naftiridin-6(5H)-il]carbonil]ciclopentil][(3S,4S)-3-metoxitetrahydro-2H-piran-4-il]amina; CD192 (véase <http://www.biologend.com/cd192-ccr2-antibodies-6166/>), RS 504393 (véase Mirzadegan *et al.*, 18 de agosto, 2000, The Journal of Biological Chemistry, 275, 25562-25571), clorhidrato de RS 102895 (Seok *et al.*, Nephrol. Dial. Transplant., julio de 2013, 28(7):1700-1710, doi: 10.1093/ndt/gfs555. Epub, 22 de junio de 2013), BMS CCR2 22 (Kredel *et al.*, J. Biomol. Screen., agosto de 2011, 16(7):683-693, doi: 10.1177/1087057111406884, Epub, 3 de mayo de 2011), dimesilato de INCB 3284 (Mcmillan *et al.*, J. Neuroinflammation, 10 de julio de 2014, 11:121, doi: 10.1186/1742-2094-11-121); ácido 3-[(3S,4R)-1-((1R,3S)-3-isopropil-2-oxo-3-[[6-(trifluorometil)-2H-1,3-benzoxazin-3(4H)-il]metil]ciclopentil)-3-metilpiperidin-4-il]benzoico; (3S,4R)-N-((1R,3S)-3-isopropil-3-[[7-(trifluorometil)-3,4-dihidroisoquinolin-2(1B)-il]carbonil]ciclopentil)-3-metiltetrahydro-2H-piran-4-aminio; ácido 3-[(3S,4R o 3R,4S)-1-((1R,3S)-3-isopropil-3-[[6-(trifluorometil)-2H-1,3-benzoxazin-3(4H)-il]carbonil]ciclopentil)-3-metilpiperidin-4-il]benzoico, otros productos químicos y compuestos sintéticos según se describe en Brodmerkel *et al.*, J. Immunol., 2005, 175:5370-7378, y el documento WO2012138880).

Además, varios grupos farmacéuticos han desarrollado inhibidores de CCR2: los inhibidores de CCR2 basados en derivados de difenilmetano de Takeda (documento WO97/24325), los inhibidores de CCR2 basados en derivados de amida hexanoica de Pfizer (documento WO 98/38167, los antagonistas de CCR2 basados en derivados de piperazina de Teijin (documento WO 97/44329), los antagonistas de CCR2 basados en 3-arilpiperidina de Merck (documento WO 98/31364).

También se han desarrollado numerosos antagonistas de CCR2 basados en derivados de péptidos. Se pueden citar derivados de piperidinilo (documento WO2012075115), derivados de diazepamo (documento WO2011048032), derivados de ciclohexano (documento WO2010121046), derivados de carboxamida (documento WO2010070032), derivados de ciclopentilo/ciclohexilo (documento WO2013152269), heterociclos bicíclicos (documento WO2011042399), derivados de indol (documento WO2012125662), derivados de mercapto (documento WO2005118578), derivados de dipiperidina (documento WO2006036527), heteroarilsulfonamidas (documento US20100056509), heteroarilpiridil- y fenilbencensulfonamidas condensadas (documento WO2009009740).

Las composiciones según la presente invención pueden comprender antagonistas de CCR2 basados en péptidos. Como ejemplo, se pueden citar el heptapéptido LGTFLKC (SEQ ID NO:1) denominado "ECL1 (C) inverso", "ECL1 (C)" que tiene la secuencia de aminoácidos CKLFTGL, "ECL2 (N)" que tiene la secuencia de aminoácidos LFTKC (SEQ ID NO:2), "ECL2 (N) inverso" que tiene la secuencia de aminoácidos CKTFL (SEQ ID NO:3), "ECL3 (C)" que tiene la secuencia de aminoácidos HTLMRNL (SEQ ID NO:4), "ECL3 (C) inverso" que tiene la secuencia de aminoácidos LNRMLTH (SEQ ID NO:5), "ECL3 (N)" que tiene la secuencia de aminoácidos LNTFQEF (SEQ ID NO:6), "ECL3 inverso" que tiene la secuencia de aminoácidos FEQFTNL (SEQ ID NO:7) y/o péptidos que comprenden la secuencia Thr-Phe-Leu-Lys (SEQ ID NO:8), tal como se indica en la publicación internacional WO2013000922.

Como alternativa, los antagonistas de CCR2 pueden ser anticuerpos anti-CCR2 y fragmentos de anticuerpos. En la técnica se conocen una serie de anticuerpos anti-CCR2 y están disponibles en el mercado. Se pueden citar en particular el anticuerpo monoclonal anti-CCR2 1D9 (ATCC HB-12549), 8G2 (ATCC HB-12550), LS132 que se ha descrito en la publicación internacional n.º WO 01/57226, un anticuerpo de bloqueo de CCR2 humano, tal como MLN1202 (Millennium Pharmaceuticals, Cambridge, MA), o un anticuerpo humano que neutraliza el CCL2 humano, por ejemplo, carlumab (CNTO 888; Centocor, Inc.), que se ha descrito en Loberg *et al.*, Cancer. Res., 67(19):9417 (2007).

También se incluyen dentro del alcance de la invención los antagonistas del ligando de CCR2, por ejemplo, MCP-1 (CCL2), CCL7 y/o CCL13.

Estos antagonistas pueden ser anticuerpos anti-MCP-1 que son muy conocidos y están bien descritos en la bibliografía. Como anticuerpos anti-MCP-1, se pueden citar anticuerpos capaces de unirse a una pluralidad de beta-quimioquinas que incluyen MCP-1 (documento WO03048083) y un anticuerpo de unión a MCP-1 que también se une a la eotaxina (documento US20040047860). Los anticuerpos que se unen selectivamente y neutralizan los homólogos de ratón de MCP-1/CCL2 humano o MCP-1/CCL2 humano son el anticuerpo anti-MCP-1/CCL2 humano denominado C775 que se ha descrito en el documento US 20090297502, así como el anticuerpo anti-MCP-1/CCL2 humano denominado CNTO888 (documento WO2006125202).

Las composiciones de la presente invención pueden comprender además truncamientos, variantes, proteínas mutantes o "muteínas" de MCP-1/CCL2 que tienen la capacidad de unirse a CCR2 y que tienen actividad antagonista. Los variantes de quimioquinas formadoras de homodímeros, tales como CCL2, que tienen una única sustitución de aminoácido en la interfase de dimerización que altera el patrón de enlaces de hidrógeno, de modo que producen un monómero obligado que se une al receptor y tiene propiedades agonistas *in vitro*, pero que puede antagonizar a las quimioquinas naturales y tienen actividad antiinflamatoria *in vivo*, tal como se describen en la publicación internacional WO05037305A1, están entre los variantes útiles para practicar la presente invención. Una antagonista peptídica de MCP-1 es el MCP-1 truncado (9-76) (Jiang-Hong Gong, *et al.*, J. Exp. Med., 1997, 186:131).

Los antagonistas del ligando CCL7 y CCL13 incluyen moléculas sintéticas u orgánicas pequeñas, productos naturales, péptidos, proteínas, peptidomiméticos, anticuerpos, fragmentos de unión al antígeno, agentes de ácido nucleico y similares. Los antagonistas peptídicos de CCL7 y/o de CCL13 generalmente pueden ser fragmentos de CCL7 y/o CCL13 que compiten con CCL7 de longitud completa y/o CCL13 de longitud completa por la unión a CCR2 y, por tanto, antagonizan a CCL7 y/o CCL13. Usando técnicas conocidas y basándose en el conocimiento de la secuencia de CCL7, pueden diseñarse ARN bicatenarios (ARNbc) o moléculas de ARN antisentido monocatenarias para antagonizar la diana, mediante el transporte dirigido basado en la homología de secuencia de su ARN. Estos ARNbc o ARNmc generalmente serán ARN de interferencia pequeños (ARNip), habitualmente en una configuración de bucle-tallo ("horquilla") o microARN (miARN). La secuencia de dichos ARNbc o ARNmc comprenderá una porción que se corresponde con una porción del ARNm que codifica la diana. Esta porción habitualmente será 100% complementaria con la porción diana dentro del ARNm diana, pero también pueden usarse unos niveles más bajos de complementariedad (por ejemplo, 90% o más, o 95% o más).

Como antagonistas de CCL7, se pueden citar los anticuerpos anti-CCL7 de la invención que tienen propiedades

5 También se incluyen dentro del alcance de la invención los antagonistas del ligando de CCR3, tales como, por ejemplo antagonistas de CCL11, que pueden incluir moléculas sintéticas u orgánicas pequeñas, productos naturales, péptidos, proteínas, peptidomiméticos, anticuerpos, fragmentos de unión al antígeno, agentes de ácido nucleico y similares. Los truncamientos, variantes, proteínas mutantes o "muteínas" de CCL11 que tienen la capacidad para unirse a CCR3 y que poseen actividad antagonista también pueden usarse para practicar el método de la invención.

Un antagonista de CCR3 particularmente preferido es el derivado de naftalenilcarbonilo SB 328437.

10 Un antagonista del receptor de quimioquinas CXCR4 evita la bioactividad o una o más funciones biológicas asociadas con el CXCR4. Este antagonista de la función de CXCR4 puede inhibir la unión de uno o más ligandos (por ejemplo, CXCL12- α y/o CXCL12- β (SDF-1- α o SDF-1- β)) a CXCR4 y/o inhibir la transducción de señales mediada a través de CXCR4. Por consiguiente, las respuestas celulares y los procesos mediados por CXCR4 (por ejemplo, proliferación, migración, respuestas quimiotácticas y diferenciación de fibrocitos) pueden ser inhibidas por los antagonistas de CXCR4.

15 Se han identificado varios antagonistas de CXCR4 basados en moléculas pequeñas que pueden usarse en las composiciones según la invención y se han caracterizado bien químicamente. Se han descrito en detalle e incluyen tetrahidroquinolinas, indoles N-sustituídos, derivados de 1,4-fenilenbis(metileno), y heterociclos que contienen N. Estas moléculas pequeñas se describen, entre otros artículos, en Wilson L.J. *et al.*, Drug Development Research, 2011, 72:598-602). Se han descrito otras moléculas pequeñas como antagonistas de CXCR4. Se pueden citar, en particular, compuesto basados en para-xililendiamina, tales como plerixafor o AMD3100 (véase Uy *et al.*, Expert Opin. Biol. Ther., noviembre de 2008, 8(11):1797-1804, doi: 10.1517/14712598.8.11.1797), TG-0054 o burixafor (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT01018979, y Hsu *et al.*, Cell Transplant., 12 de mayo de 2014), JM1657 (Mini Rev. Med. Chem., septiembre de 2005, 5(9):805-824), AMD3329 (Bridger *et al.*, J. Med. Chem., 23 de septiembre de 1999, 42(19):3971-3981), AMD3465 (Bodart *et al.*, Biochem. Pharmacol., 15 de octubre de 2009, 78(8):993-1000, doi: 10.1016/j.bcp.2009.06.010., Epub, 18 de junio de 2009), AMD070 (Crawford *et al.*, Org. Process Res. Dev., 2008, 12(5), pp. 823-830), MSX-122 (Liang *et al.*, PLoS One, 2012, 7(4):e34038, doi: 10.1371/journal.pone.0034038, Epub, 2 de abril de 2012), CTCE-9908 (Wong *et al.*, BMC Urology, enero de 2014, 14:12), WZ811 (<http://www.selleckchem.com/products/wz-811.html>), N,N'-Di-2-piridinil-1,4-bencendimetanamina, 4F-benzool-TN14003 (BKT-140) (Peled *et al.*, Clin. Cancer Res., 15 de enero de 2014, 20(2):469-479, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1302, Epub, 18 de noviembre de 2013).

30 Varias de estas moléculas pequeñas han sido aprobadas o están en fases clínicas, según se muestra en la siguiente tabla:

Plerixafor	Aprobado por la FDA	Movilización de células madre hematopoyéticas en pacientes con linfoma no hodgkiniano y mieloma múltiple	Genzyme
Plerixafor	Fase I	Glioma, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica	Genzyme
Plerixafor	Fase I	Mielocatexis (síndrome WHIM)	Genzyme
TG-0054	Fase II	Movilización de células madre hematopoyéticas en pacientes con mieloma múltiple, linfoma no hodgkiniano o enfermedad de Hodgkin	TaiGen Biotechnology Co., Ltd.
AMD070	Fase I/II	Infecciones por VIH	National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)
MSX-122	Fase I	Tumores sólidos localmente avanzados o metastásicos refractarios	Metastatix, Inc.
CTCE-9908	Fase I/II	Tumores sólidos avanzados	Chemokine Therapeutics Corp.
POL6326	Fase II	Movilización de células madre hematopoyéticas en pacientes con leucemia, linfoma y mieloma múltiple	Polyphor Ltd.

35 También se han descrito antagonistas de CXCR4 en numerosas publicaciones basadas en diversos andamiajes químicos, como por ejemplo, antagonistas de CXCR4 basado en indol (Bioorg. Med. Chem. Lett., 2008, 18:4124-4129), derivados de tetrahidroquinolina o biciclamos (documento US 5.583.131, documento WO200056729), miméticos de ciclamó (documento US20060264451), antagonistas de CXCR4 basados en guanidina (Antimicrob. Agents Chemother., 2011, 55:255-263).

Un antagonista de CXCR4 particularmente preferido es el plerixafor (Mozobil) o sus derivados, los compuestos estructuralmente modificados preparados a partir del plerixafor. Estos derivados pueden ser compuestos macrocíclicos de poliamina enlazados con aromáticos, tales como derivados de tetraflúor del plerixafor que se describen, entre otros documentos, en el documento WO 93/12096 y la patente de EE.UU. 5583131.

- 5 Otros antagonistas de CXCR4 son moléculas catiónicas capaces de unirse al dominio extracelular predominantemente aniónico de CXCR4. Pertenecen a diferentes clases químicas, que incluyen penta- y tetrapéptidos cíclicos, miméticos de dicetopiperazina, biciclamos, tetrahydroquinolinas, derivados de tiazolisotiourea, benzodiazepinas, complejos de dipicolilamina-cinc(II) y derivados naturales.

10 Las composiciones según la presente invención también pueden comprender un antagonista de CXCR4 basado en péptidos. A este respecto, se pueden citar antagonistas de CXCR4 basado en péptidos, tales como LY2510924, GST-NT21MP, T140 un antagonista basado en un pentapéptido cíclico que se ha identificado como un antagonista de CXCR4 muy potente y sus análogos (TC14012, TE14005, y TN14003), péptido S, antagonista de CXCR4 de ciclopentapéptido FC131 (ciclo(-Arg(1)-Arg(2)-2-Nal(3)-Gly(4)-D-Tyr(5)-), 2; 2-Nal = 3-(2-naftil)alanina), y el análogo FC122 que se corresponde con la secuencia de aminoácidos de FC131, en la que un resto Arg ha sido reemplazado por la N-metil-D-arginina epimérica, o péptidos modificados, tales como POL6326, péptidos cíclicos y antagonistas de CXCR4 basados en pentapéptidos (documento WO2008150689).

15 Según la presente invención, el inhibidor de CXCR4 puede ser un resto basado en un anticuerpo dirigido contra el receptor CXCR4, en el que dicho resto basado en un anticuerpo es capaz de actuar como un antagonista de CXCL12. De modo específico, los anticuerpos anti-CXCR4 pueden incluir anti-CXCR4 ECL3, anticuerpo monoclonal 12G5, anticuerpo monoclonal 708, anticuerpo monoclonal 716 y anticuerpo monoclonal 717 (R&D Systems, n.º de catálogo: MAB170, MAB171, MAB172 y MAB173), anticuerpo monoclonal 2B11, 44717.111, 44716.111, 44708.111 [R&D Systems, Minneapolis, Minn, véase también Stalmeijer *et al.*, J. Virol., marzo de 2004, 78(6):2722-2728].

20 También se incluyen en el alcance de la invención los antagonistas del ligando de CXCR4, por ejemplo, antagonistas de CXCL12- α y/o CXCL12- β (SDF-1- α o SDF-1- β), que pueden incluir moléculas sintéticas u orgánicas pequeñas, productos naturales, péptidos, proteínas, peptidomiméticos, anticuerpos, fragmentos de unión al antígeno, agentes de ácido nucleico y similares. Los truncamientos, variantes, proteínas mutantes o "muteínas" de SDF-1 que tienen la capacidad para unirse a CXCR4 y que poseen actividad antagonista también pueden usarse para practicar el método de la invención.

25 También se han descrito inhibidores de ácido nucleico de la actividad SDF-1 y estos pueden usarse en las composiciones de la presente invención. Estos inhibidores basados en ácidos nucleicos pueden actuar al nivel de unión al receptor o a los niveles de expresión génica y traduccional. Los inhibidores de ácido nucleico de la actividad CXCR4 incluyen, sin limitación, enzimas de ácido nucleico (tales como ribozimas), aptámeros de ácido nucleico, ácidos nucleicos antisentido, y ARNi, tal como ARNiP. Se han descrito inhibidores de CXCR4 de ácido nucleico en las siguientes referencias: patente de EE.UU. n.º 6.429.308 B1; publicación de EE.UU. n.º 2005/0124569 A1; patente de EE.UU. n.º 6.916.653 B2; publicación de EE.UU. n.º 2005/0202077 A1. Estos inhibidores de ácido nucleico pueden incluir un oligonucleótido antisentido que es complementario a algunas partes de secuencias de bases del ADN cromosómico y/o ARN que codifica la proteína de CXCR4. El oligonucleótido antisentido de la presente invención puede ser ADN o ARN.

30 De modo específico, el oligonucleótido antisentido puede ser complementario con la secuencia de bases que contiene la región de codón de inicio desde +61 a +91, en la que el punto de inicio de la transcripción del gen del ARNm que codifica la proteína de CXCR4 es +1, y, al mismo tiempo, se hibrida de modo estable con dicha secuencia específicamente y bloquea la traducción en una proteína, por lo que tiene la función de inhibir la biosíntesis de la proteína de CXCR4. Como alternativa, puede usarse un ANic que no esté modificado o que esté químicamente modificado, con lo cual el uso del ANic químicamente modificado mejora diversas propiedades de las moléculas de ANic nativas aumentando la resistencia a la degradación por nucleasas *in vivo* y/o mejorando la captación celular, tal como se describe en la publicación de EE.UU. n.º 2005/0202077 A1. También se incluyen dentro del alcance los ARNm que codifican las proteínas de CXCR4 que pueden ser rotas por ribozimas de cabeza de martillo, para bloquear con eficacia la producción de estas proteínas, tal como se describe en la patente de EE.UU. n.º 6.916.653 B2. También dentro del alcance se encuentra ANic que pueden emplearse con eficacia en composiciones para incluir secuencias de ARNiP que se corresponden con las secuencias diana proporcionadas en SEQ ID NO:101-823 de la publicación de EE.UU. n.º 2005/0202077.

35 Los antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 adecuados para su uso según la presente invención pueden administrarse por sí solos, pero, en terapia humana, en general se administran mezclados con un vehículo, excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable, seleccionado con respecto a la vía prevista de administración y la práctica farmacéutica convencional. Este vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable puede estar presente en una cantidad entre 0,1% y menos del 100% en peso. La optimización de las proporciones de fármaco-excipientes está dentro de los conocimientos de los expertos en la técnica, por ejemplo, la proporción en peso deseada de fármaco-excipientes en la composición puede ser menor o igual a la proporción de solubilidades del fármaco-excipientes en un medio adecuado.

Las composiciones según la presente invención, por tanto, son preferiblemente composiciones farmacéuticas para su uso en un método para tratar y/o prevenir la EPOC y las EAEPOC y, por tanto, comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un antagonista o inhibidor de las parejas de receptor/ligando CCR2/CCL2, CCR2/CCL7, CCR2/CCL13, CXCR4/CXCL12 y/o CCR3/CCL11 y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones farmacéuticas son eficaces para reducir el reclutamiento y la migración de fibrocitos asociados con la EPOC y modulados a través de CCR2 y/o CCR3 y/o CXCR4.

Una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad predeterminada suficiente para lograr una concentración sistémica eficaz o concentración local en el tejido y un efecto deseado, concretamente, inhibir o bloquear/antagonizar una o más de las anteriores parejas de receptor/ligando. La dosis específica de un compuesto administrada según la invención para obtener efectos terapéuticos y/o profilácticos será determinada, por supuesto, por el médico dependiendo de las condiciones del paciente, el peso, la edad y el sexo, el compuesto administrado, la vía de administración, etc.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse por vía oral, bucal o sublingual, y pueden estar en forma de comprimidos, cápsulas (que incluyen cápsulas de gel blandas), múltiples partículas, geles, películas, elixires, disoluciones o suspensiones, que pueden contener agentes aromatizantes o colorantes, para aplicaciones de administración pulsátil o de liberación inmediata, retrasada, modificada, sostenida, dual o controlada. Estos compuestos también pueden administrarse a través de formas de dosificación de dispersión rápida o de disolución rápida o en forma de una dispersión de alta energía o como partículas revestidas. Las formulaciones farmacéuticas adecuadas pueden estar en forma revestida o no revestida, según se desee.

Dichas composiciones farmacéuticas sólidas, por ejemplo, comprimidos, pueden contener excipientes, tales como celulosa microcristalina, lactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de calcio dibásico, glicina y almidón, disgregantes, tales como almidón glicolato de sodio, croscarmelosa sodio y ciertos silicatos complejos, y ligantes de granulación, tales como polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAS), sacarosa, gelatina y goma arábiga. Además, pueden incluirse agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo y talco. Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden emplearse como cargas en cápsulas de gelatina o cápsulas de HPMC. A este respecto, los excipientes incluyen lactosa, almidón, celulosa, lactosa o polietilenglicoles de alto peso molecular. Para las suspensiones acuosas y/o elixires, los compuestos antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 pueden combinarse con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, sustancias colorantes o tintes, con agentes emulgentes y/o suspensores, y con diluyentes, tales como agua, etanol, propilenglicol y glicerina, y sus combinaciones.

Las formas de dosificación de liberación modificada y de liberación pulsátil pueden contener excipientes, tales como los detallados para las formas de dosificación de liberación inmediata, junto con otros excipientes que actúan como modificadores de la tasa de liberación, estando estos revestidos sobre el cuerpo del dispositivo y/o incluidos en él. Los modificadores de la tasa de liberación incluyen, pero no se limitan exclusivamente a HPMC, HPMCAS, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sodio, etilcelulosa, acetato de celulosa, óxido de polietileno, goma de xantano, carbómero, copolímero de metacrilato de amonio, aceite de ricino hidrogenado, cera de carnauba, cera de parafina, acetato ftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, copolímero de ácido metacrílico y sus mezclas. Las formas de dosificación de liberación modificada y de liberación pulsátil pueden contener un excipiente o una combinación de excipientes que modifican la tasa de liberación. Los excipientes que modifican la tasa de liberación pueden estar presentes dentro de la forma de dosificación, es decir, dentro de la matriz y/o sobre la forma de dosificación, es decir, sobre la superficie o revestimiento.

Las formulaciones de dosificación de dispersión rápida o de disolución rápida ("fast dispersing or dissolving dosage formulations", FDDF) pueden contener los siguientes ingredientes: aspartamo, acesulfamo potasio, ácido cítrico, croscarmelosa sodio, crospovidona, ácido diascórbico, acrilato de etilo, etilcelulosa, gelatina, hidroxipropilmetilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, metacrilato de metilo, aroma de menta, polietilenglicol, sílice de pirolysis, dióxido de silicio, almidón glicolato de sodio, estearilfumarato de sodio, sorbitol, xilitol. Los términos dispersar o disolver, tal como se emplean en la presente para describir las FDDF, dependen de la solubilidad de la sustancia fármaco usada, es decir, en los casos en que la sustancia fármaco es insoluble, puede prepararse una forma de dosificación de dispersión rápida, y en casos en los que la sustancia fármaco es soluble, puede prepararse una forma de dosificación de disolución rápida.

Los antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 adecuados para su uso según la presente invención también pueden administrarse por vía parenteral, por ejemplo, por vía intracavernosa, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intraesternal, intracraneal, intramuscular o subcutánea, o pueden administrarse mediante infusión o técnicas sin aguja. Para dicha administración parenteral, se emplean mejor en forma de una disolución acuosa estéril, que puede contener otras sustancias, por ejemplo, las suficientes sales o glucosa para que la disolución sea isotónica con la sangre. Las disoluciones acuosas deben tamponarse de modo adecuado (por ejemplo, hasta un pH de aproximadamente 3 a 9), si es necesario. La preparación de formulaciones parenterales adecuadas bajo condiciones estériles puede realizarse con facilidad mediante técnicas farmacéuticas convencionales muy conocidas por los expertos en la técnica.

La administración oral y parenteral a los pacientes puede realizarse a un nivel de dosificación diario de los antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4, determinado por el médico, y este variará según la edad, el peso y la respuesta del paciente concreto. La dosificación puede ser una única dosis, una dosis diaria dividida, o múltiples dosis diarias. Como alternativa, puede administrarse una dosificación continua, tal como, por ejemplo, a través de una forma de dosificación de liberación controlada (por ejemplo, lenta) sobre una base diaria o durante más de un día.

Los antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 adecuados para su uso según la presente invención también pueden administrarse por vía intranasal o mediante inhalación, y se administran de modo conveniente en forma de un inhalador de polvo seco o una presentación de pulverizador en aerosol a partir de un recipiente presurizado, bomba, pulverizador o nebulizador con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, un hidrofluoroalcano, tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134A(TM)) o 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano (HFA 227EA(TM)), dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad dosimétrica. El recipiente, bomba, pulverizador o nebulizador presurizado puede contener una disolución o una suspensión del compuesto activo, por ejemplo, usando una mezcla de etanol y el propelente como disolvente, que también puede contener un lubricante, por ejemplo, trioleato de sorbitano. Las cápsulas y los cartuchos (cápsula de gelatina) para su uso en un inhalador o insuflador pueden formularse para que contengan una mezcla en polvo de un compuesto de la invención y una base de polvos adecuada, tal como lactosa o almidón.

Las formulaciones en aerosol o polvo seco se disponen preferiblemente de modo que cada dosis dosimétrica o "puff" contenga una cantidad terapéuticamente eficaz de los antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 para su administración al paciente que se va a tratar. La dosis diaria global con un aerosol estará en el intervalo de 1 a 50 mg, que pueden administrarse en una única dosis o, de modo más habitual, en dosis divididas a lo largo del día. Los antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 adecuados para su uso según la presente invención también pueden formularse para la administración a través de un atomizador. Las formulaciones para dispositivos atomizadores pueden contener los siguientes ingredientes como solubilizantes, emulgentes o agentes suspensores: agua, etanol, glicerol, propilenglicol, polietilenglicoles de bajo peso molecular, cloruro de sodio, fluorocarbonos, éteres de polietilenglicol, trioleato de sorbitano y ácido oleico.

Los antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 adecuados para su uso según la presente invención también pueden usarse en combinación con una ciclodextrina. Las ciclodextrinas son conocidas por formar complejos de inclusión y de no inclusión con moléculas de fármacos. La formulación de un complejo de fármaco-ciclodextrina puede modificar la solubilidad, la tasa de disolución y la biodisponibilidad y/o la propiedad de estabilidad de una molécula de fármaco. Los complejos de fármaco-ciclodextrina en general son útiles para la mayoría de las formas de dosificación y vías de administración. Como alternativa a la complejación directa con el fármaco, la ciclodextrina puede usarse como aditivo auxiliar, por ejemplo, como vehículo, diluyente o solubilizante. Las alfa-, beta- y gamma-ciclodextrinas son algunas de las que se emplean más habitualmente, y se describen ejemplos adecuados en las publicaciones PCT n.ºs WO 91/11172, WO 94/02518 y WO 98/55148. Según la presente invención, la administración oral es la vía preferida.

En circunstancias en las que el receptor padece un trastorno de tragado o una alteración en la absorción del fármaco después de la administración oral, el fármaco puede administrarse por vía parenteral, sublingual, o bucal. En el caso en que el agente sea inactivo por vía oral, entonces puede utilizarse la administración parenteral.

También pueden usarse otras formulaciones posibles, tales como nanopartículas, liposomas y sistemas con una base inmunológica, para administrar una dosis apropiada de las composiciones que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de los antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 según la presente invención.

Los antagonistas de los receptores CCR2, CCR3 y/o CXCR4 pueden administrarse por sí solos o en cualquiera de sus combinaciones. Además, los antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 pueden administrarse por sí solos o en cualquiera de sus combinaciones en un sentido temporal, es decir, pueden administrarse simultáneamente, antes y/o después de cualquiera de ellos. Según la descripción proporcionada en la presente, los antagonistas de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 son útiles para reducir y/o inhibir la migración y la diferenciación de fibrocitos y, por tanto, son útiles para tratar y/o prevenir la EPOC, así como las EAPOC.

La presente invención también proporciona kits o envases farmacéuticos que incluyen dosis apropiadas de los anteriores antagonistas o composiciones para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la EPOC y las EAPOC. Además de las composiciones en forma, por ejemplo, de comprimidos, cápsulas o polvos liofilizados, los kits o envases farmacéuticos pueden incluir instrucciones para usar y administrar la composición para la prevención y/o el tratamiento de la EPOC y las EAPOC. Estos kits o envases pueden proporcionarse en una botella u otra forma apropiada (por ejemplo, un envasado en blíster). Opcionalmente, los kits o envases farmacéuticos también pueden incluir otros agentes farmacéuticamente activos y/o materiales usados en la administración del fármaco o fármacos, tales como diluyentes, agujas, jeringas, aplicadores y similares.

En particular, las composiciones farmacéuticas y los kits según la presente invención pueden administrarse en asociación con otros agentes farmacéuticamente activos, tales como, por ejemplo, broncodilatadores (LABA, LAMA),

corticoides y/o inhibidores de fosfodiesterasa, por vía oral o mediante inhalación.

La presente invención proporciona además un método para suprimir la proliferación, la migración y la diferenciación de fibrocitos mediadas y/o moduladas por CCR2, CCR3 y/o CXCR4 en un sujeto que padece EPOC o EAEPOC o en riesgo de desarrollar EPOC o EAEPOC, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica, según se describió anteriormente.

Según una segunda realización, la presente invención se dirige a un método *in vitro* o *in vivo* para seleccionar o identificar agentes que pueden usarse en los métodos de tratamiento descritos en la presente. Estos métodos pueden incluir la determinación de si un agente inhibe la función o la unión al ligando de CCR2, CCR3 y/o CXCR4, seguido de su confirmación como agente eficaz para tratar y/o prevenir la EPOC. Como alternativa, los métodos de selección simplemente pueden implicar ensayar agentes que se sabe que son agentes terapéuticos inhibidores de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 para determinar su eficacia para tratar y/o prevenir la EPOC. El ensayo de un agente para determinar su eficacia para alterar la actividad de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 puede realizarse usando métodos *in vitro* y/o *in vivo* que son muy conocidos en la técnica (Charo *et al.* (1994), PNAS, 91, 2752-2756). La eficacia terapéutica de dichos compuestos activos puede determinarse mediante procedimientos terapéuticos convencionales en cultivos celulares o en modelos animales, por ejemplo, para determinar la DE50 (la concentración del producto que produce 50% del efecto máximo). Estos ensayos pueden realizarse en sistemas de modelos animales apropiados para la EPOC.

Según esta realización, pueden identificarse otros antagonistas de las funciones de CCR2, CCR3 y CXCR4, por ejemplo, mediante la selección de bancos de colecciones de moléculas. Otra fuente de antagonistas de las funciones de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 pueden ser los bancos combinatorios, que pueden comprender muchas especies moleculares diferenciadas desde el punto de vista estructural. Los bancos combinatorios pueden usarse para identificar compuestos de partida o para optimizar un compuesto de partida previamente identificado. Estos bancos pueden fabricarse mediante métodos muy conocidos de química combinatoria y pueden seleccionarse mediante métodos adecuados.

Pueden identificarse otros antagonistas selectivos usando ensayos convencionales conocidos por los expertos en la técnica. Brevemente, un tipo de selección para identificar moduladores selectivos emplea líneas celulares, incluyendo células primarias o células CCR2, CCR3 y/o CXCR4 transfectadas. Como alternativa, pueden utilizarse modelos animales.

Por tanto, el método de la presente invención es particularmente útil para seleccionar/identificar agentes capaces de disminuir la migración y la diferenciación de fibrocitos en la EPOC o durante las EAEPOC. Dicho método puede comprender administrar un agente a un animal de ensayo que sobreexpresa uno o más de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 y analizar si la cantidad de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 ha disminuido, comparado con los niveles anteriores a la administración del agente de ensayo, y si la cantidad de CCR2, CCR3 y/o CXCR4 ha disminuido, el agente de ensayo se identifica como un agente que es capaz de disminuir la migración y la diferenciación de fibrocitos en la EPOC.

Según una tercera realización, la presente invención se dirige a un método para evaluar el riesgo de EPOC o EAEPOC en un sujeto, que comprende: a) obtener una muestra adecuada de dicho sujeto, b) aislar e identificar los fibrocitos en la circulación en dicha muestra, c) opcionalmente, evaluar la migración de los fibrocitos en dicha muestra, y d) medir los niveles de expresión de los receptores de quimioquinas CCR2, CCR3 y/o CXCR4 en dicha muestra. Dicho método puede comprender además una etapa de administrar al sujeto diagnosticado con un riesgo de desarrollar EPOC, EAEPOC o diagnosticado con EPOC o EAEPOC, una cantidad eficaz de la composición farmacéutica, según se describió anteriormente.

Según una cuarta realización, la presente invención proporciona un método *in vitro* para medir el nivel de al menos un gen seleccionado del grupo que consiste en CCR2, CCR3 y CXCR4 en fibrocitos de sangre periférica. La presente invención también proporciona un método para controlar la respuesta a un agente terapéutico en un paciente que padece EPOC, que comprende la etapa de medir el nivel de expresión de al menos un gen seleccionado del grupo que consiste en CCR2, CCR3 y CXCR4 en los fibrocitos de sangre periférica del paciente.

Ejemplos

Ejemplo 1: Reclutamiento de sujetos

Podían reclutarse sujetos mayores de 40 años si presentaban un diagnóstico clínico de exacerbación de la EPOC según las líneas directrices de GOLD (Gold, 1998, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, publicación NIH, actualizada en 2011). Los pacientes con EPOC con exacerbación se reclutaron durante la hospitalización en la unidad de cuidados intensivos o como pacientes externos en el centro de investigación clínica del CHU de Bordeaux. Se reclutaron 48 voluntarios sanos sin historia de enfermedad pulmonar y con un ensayo de la función pulmonar normal. Los sujetos se separaron en 2 subgrupos según su historia de tabaquismo (nunca han fumado, han sido fumadores o fuman en la actualidad) y se hacen corresponder con los pacientes según la edad y el sexo.

Los criterios de exclusión principales para los pacientes con EPOC y los sujetos sanos fueron asma, fibrosis pulmonar, hipertensión pulmonar idiopática e infecciones víricas crónicas (hepatitis, VIH). Los pacientes con EPOC exacerbante y los sujetos control se reclutaron en el estudio "Firebrob". Además, también se reclutaron pacientes con EPOC que no presentaron exacerbaciones durante un periodo mínimo de un año como pacientes externos en el centro de investigación clínica del CHU de Bordeaux (estudio "Cobra"). Estos se denominan "pacientes con EPOC no exacerbante" en el siguiente texto. A todos los sujetos se les proporcionó un consentimiento informado escrito. El protocolo del estudio fue aprobado por el comité ético de investigación local y la Agencia Nacional Francesa para la Seguridad de Medicinas y Productos Sanitarios.

Ejemplo 2: Diseño del estudio "Firebrob"

El estudio se realizó en un ensayo clínico de grupo de centros durante 3 años. En la figura 1 se proporciona un resumen del estudio. El estudio se ha registrado con el n.º NCT01196832 at ClinicalTrials.gov (concretamente, estudio "Firebrob").

Se produjeron dos visitas para los pacientes con EPOC exacerbante: una visita durante la exacerbación (inclusión, V1), y una visita dos meses \pm 7 días después de la exacerbación (estado estable, V2). La visita de inclusión (V1) consistió en la información y la firma del consentimiento informado, y la toma de una muestra de sangre (50 ml) para el análisis de los fibrocitos. La segunda visita (V2) consistió en una evaluación clínica y funcional (pletismografía, TLCO, gasometría arterial) y la toma de una muestra de sangre para el análisis de los fibrocitos. Se produjo una visita para los sujetos control y los "pacientes con EPOC no exacerbante", durante la cual se firmó el consentimiento informado, se realizó una evaluación clínica y funcional (pletismografía, TLCO, gasometría arterial) y se tomó una muestra de sangre para el análisis de los fibrocitos.

Ejemplo 3: Diseño del estudio "Cobra"

Se produjo una visita de los "pacientes con EPOC no exacerbante", durante la cual se firmó el consentimiento informado, se realizó una evaluación clínica y funcional (pletismografía, TLCO, gasometría arterial) y se tomó una muestra de sangre para el análisis de los fibrocitos.

El estudio se ha registrado con el n.º CPP 0811738 (concretamente, estudio "Cobra")

Ejemplo 4: Fibrocitos en la circulación

Se realizó una purificación de células no T no adherentes ("nonadherent non-T", NANT). Brevemente, se separaron las células mononucleares de sangre periférica ("peripheral blood mononuclear cells", PBMC) de la sangre completa mediante centrifugación en gradiente de densidad Ficoll-Hypaque. Después de la primera centrifugación a 150 g durante 15 min, la capa superior de plasma se recolectó y se mantuvo a -80°C para el posterior análisis. Se recolectaron las células mononucleares en la interfase y se lavaron una vez con 1X PBS. Se realizó la lisis de los eritrocitos añadiendo 20 ml de una disolución de NaCl al 0,2% hipotónica durante 30 s, seguido de la adición de 20 ml de NaCl al 1,6% para finalizar con una disolución isotónica. Las células mononucleares se volvieron a lavar con 1X PBS, se resuspendieron en medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), glucosa 4,5 g/l, L-glutamina, suplementado con suero bovino fetal ("fetal bovine serum", FBS) al 20%, penicilina/estreptomicina y MEM de aminoácidos no esenciales y se incubó durante 1 h a 37°C . Se tomó la fracción de células mononucleares no adherentes y se lavó en 1X PBS frío, BSA al 0,5%, EDTA 2 mM. Las células T se depuraron aún más con un anticuerpo monoclonal anti-CD3 (Miltenyi Biotech). Se distribuyeron al menos $0,2 \times 10^6$ células no T no adherentes (NANT) en cada tubo de FACS y se fijaron durante la noche con Cytotfix/Cytoperm (eBioscience).

Ejemplo 5: Identificación y caracterización de los fibrocitos en la circulación

Se identificaron los fibrocitos mediante citometría de flujo como un doble positivo para el marcador de la superficie CD45 y el marcador intracelular colágeno I. Las células NANT sanguíneas fijadas se lavaron en tampón de permeabilización (eBioscience) y se incubaron con anticuerpos anti-colágeno I humano de ratón (Millipore n.º de catálogo MAB3391, RRID:AB_94839) o con un control de isotipo IgG1 correspondiente (Santa Cruz Biotechnology, n.º de catálogo sc-3877, RRID:AB_737222), seguido de anticuerpos antirratón conjugados con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Beckman Coulter, n.º de catálogo IM0819). Después, el sedimento celular se incubó con anticuerpos anti-CD45 conjugados con alofocianina (APC) (BD Biosciences, n.º de catálogo 555485, RRID:AB_398600) o con un control de isotipo IgG1 conjugado con APC correspondiente (BD Biosciences, n.º de catálogo 555751, RRID:AB_398613). La suspensión celular se analizó con un citómetro de flujo BD FACSCanto II (BD Biosciences, San José, CA). Se realizó un análisis fuera de línea con un programa informático FACSDiva. Se estableció el umbral negativo para CD45 usando un control de isotipo IgG1 conjugado con APC correspondiente, y se estableció una ventana de análisis para todas las posteriores muestras para la región positiva a CD45. Las células con una ventana de análisis para CD45 se analizaron para la expresión del colágeno-1, y se ajustaron los umbrales de control negativo usando células teñidas con FITC. Se determinó la tinción específica para el colágeno-1 como un aumento en los acontecimientos positivos por encima de este umbral. El número de fibrocitos se expresó como un porcentaje de los recuentos de PBMC totales.

Ejemplo 6: Migración de fibrocitos

Se evaluó la migración de los fibrocitos usando un ensayo de cámara de Boyden modificado. Las inserciones de transpocillos (tamaño de poro 8 μm) y los pocillos se revistieron durante 1 h a temperatura ambiente con poli-lisina-etilenglicol (PEG-PLL, Susos) para evitar la adhesión de las células. Las inserciones y los pocillos se enjuagaron con PBS. Se añadieron $0,3 \cdot 10^6$ de células no T no adherentes (NANT) resuspendidas en 0,2 ml de DMEM, glucosa 4,5 g/l, L-glutamina, suplementado con ITS, penicilina/estreptomicina y MEM de aminoácidos no esenciales, al compartimento superior de cada pocillo. Cuando se indica, las células NANT se pretrataron durante 1 h a 37°C con plerixafor 25 $\mu\text{g/ml}$ (Sigma-Aldrich) o SB 328437 10 μM (R&D Systems) antes de ser añadidas al compartimento superior. Se añadió CXCL12 humano recombinante (de 25 ng/ml a 200 ng/ml; R&D Systems), CCL11 humano recombinante (de 25 ng/ml a 200 ng/ml; R&D Systems) o plasma (50% de dilución) extraído de sangre que procede de un paciente con EPOC V1 o de un sujeto control, al compartimento inferior de cada pocillo. Después de aproximadamente 12 h, el contenido del compartimento inferior se retiró para evaluar la migración de los fibrocitos mediante citometría de flujo usando el marcaje doble de CD45-colágeno I. Para obtener los valores absolutos de células migratorias, se obtuvieron los recuentos citométricos de flujo para cada condición durante un periodo de tiempo predeterminado constante (1 min). La fracción de los fibrocitos migratorios se definió mediante la proporción entre el número de células CD45+coll I+ contadas en la cámara inferior dividido entre el número de células CD45+coll I+ añadidas al compartimento superior. Estos valores se normalizaron a la fracción de fibrocitos migratorios obtenidos en la condición basal (solo medio).

Ejemplo 7: Medición de CXCL12 y CCL11 en plasma

Se midió CXCL12 y CCL11 en plasma mediante ELISA según las instrucciones del fabricante (R&D Systems).

Ejemplo 8: Resultados

Reclutamiento y características de la línea de base

Se reclutaron 58 pacientes con EPOC exacerbante y 48 sujetos control (figura 1). Entonces se cuantificó el nivel de fibrocitos en 48 pacientes con EPOC exacerbante (V1), en 9 pacientes con EPOC no exacerbante, y en 38 sujetos control. Entonces se cuantificó el nivel de fibrocitos en 27 pacientes con EPOC en estado estable (V2).

Fibrocitos en sangre en circulación

El porcentaje de fibrocitos en sangre (células CD45+ Coll+) fue mayor en pacientes con EPOC durante la exacerbación ("V1", mediana = 9,6 (95% de intervalo de confianza [CI], de 9,5 a 15,7) de PBMC, n = 48) comparado con los "pacientes con EPOC no exacerbante" ("Nex", mediana = 2,4 (95% CI, de 0,3 a 6,8) de PBMC, n = 9, $p < 0,05$) y en sujetos control (mediana = 3,0 (95% CI, de 3,1 a 5,3) de PBMC, n = 38, $p < 0,001$) (figura 2A). Se obtuvieron resultados similares en el nivel de fibrocitos cuando se expresa como recuentos absolutos por mililitro de sangre (figura 2B). Tanto el porcentaje (figura 2C) como el número absoluto (figura 2D) de fibrocitos positivos a CD34 en la circulación aumentaron en los pacientes con EPOC exacerbante, comparado con los que aparecen en los sujetos control. Sin embargo, cuando se separan subgrupos de pacientes con EPOC exacerbante basándose en su tratamiento para la exacerbación de la EPOC (antibióticos, corticoides orales), modo de ventilación (ventilación espontánea, ventilación no invasiva o intubación), y presencia o ausencia de hospitalización, no se observaron diferencias significativas en los fibrocitos entre los diferentes subgrupos (los datos no se muestran).

Dos meses después de la exacerbación ("V2"), tanto el porcentaje (figura 2E) como el número absoluto (figura 2F) de fibrocitos se redujeron significativamente, comparado con los evaluados en V1 ($p < 0,01$). Además, se produjo un aumento significativo en el porcentaje de fibrocitos en V2 en un subgrupo de pacientes con 2 o más visitas no programadas para la EPOC el año anterior a V1 y los que no tuvieron ninguna visita programada (figura E1).

Relaciones entre fibrocitos, supervivencia y parámetros funcionales y clínicos

Los datos de supervivencia se recogieron en pacientes con EPOC durante la mediana de un periodo de 1,4 años y hasta 3 años después de la V1. Se realizó un análisis de la supervivencia de Kaplan-Meier en 2 subgrupos de pacientes basándose en el porcentaje de fibrocitos evaluados en V1. Los pacientes con más de 28% de fibrocitos presentaron una esperanza de vida significativamente reducida, comparado con pacientes con menos de 28% de fibrocitos (figura 3A). No se observó una diferencia estadística entre los 2 subgrupos en términos de proporción de sexos, edad, FEV1, FVC, PaO₂ (los datos no se muestran). El subgrupo de pacientes con más de 28% fibrocitos consistió en 6 pacientes con exacerbación aguda que requirieron hospitalización, mientras que el subgrupo de pacientes con menos de 28% fibrocitos consistió en 36 pacientes con exacerbación aguda (20 requirieron hospitalización y 16 sin hospitalización).

También se determinaron los coeficientes de correlación entre los porcentajes de fibrocitos evaluados en la segunda visita (es decir, V2, dos meses después de la exacerbación en el estado estable) y diversos parámetros funcionales. El porcentaje de fibrocitos se correlacionó negativa y significativamente con FEV1 (% predicho, figura 3B), FVC (% predicho, figura 3C), la proporción de FEV1/FVC (% , figura 3D), TLCO (% predicho, figura 3E) y PaO₂ (mmHg, figura 3F). Se obtuvieron unas correlaciones negativas similares entre el porcentaje de fibrocitos en la circulación en la

segunda visita y FEV1 (L), FVC (L) o FEF25-75 (L/s y % predicho) (figura E2). Por contraste, no se observó una correlación significativa entre los porcentajes de fibrocitos en la circulación de pacientes exacerbantes y la edad (los datos no se muestran).

Expresión en fibrocitos de receptores de quimioquinas

5 Después se evaluó la expresión de receptores de quimioquinas en fibrocitos mediante citometría de flujo. Los receptores CXCR4, CCR2 y CCR3 son expresados por una elevada proporción de fibrocitos (figuras 4A, C, E), mientras que los receptores CCR5 y CCR7 solo se descubrieron en una pequeña proporción de células CD45+Coll+ (figuras 4G y H). Se observó un nivel mayor de fibrocitos CXCR4+ y CCR3+ en pacientes con EPOC que en sujetos control (figuras 4B, D y F).

10 *Papel de los ejes de CXCL12/CXCR4 y CCL11/CCR3 en la migración de fibrocitos*

Puesto que se encontraron más fibrocitos CXCR4+ y CCR3+ en la sangre de pacientes con EPOC exacerbante, se investigó el papel de CXCR4 y CCR3 en la migración de fibrocitos inducidos por plasma en un ensayo *in vitro*. El plerixafor, un antagonista de CXCR4 (De Clercq, E., 2003, The bicyclam AMD3100 story, Nat. Rev. Drug Discov., 2(7):581-587) induce una reducción significativa en el reclutamiento inducido por plasma de fibrocitos obtenidos de pacientes con EPOC exacerbante, pero no se produjo una reducción significativa en la migración de fibrocitos obtenidos de sujetos normales (figura 5A). Por contraste, la migración inducida por plasma de fibrocitos procedentes de pacientes con EPOC exacerbante o de sujetos control no se vio afectada por SB 328437, un antagonista de CCR3 (White, J. R., et al., 2000, J. Biol. Chem., 275(47):36626-36631) (figura E3A). También se compararon las concentraciones en plasma de algunos ligandos de CXCR4 y CCR3. Las concentraciones en plasma de CXCL12 alfa (ligando de CXCR4) y CCL11 y CCL13 (ligandos de CCR3) no se diferencian significativamente entre los grupos (figura 5B, figura E3B). Por tanto, se estudió la respuesta migratoria de los fibrocitos a concentraciones crecientes de CXCL12 alfa y CCL11. El CXCL12 alfa (figura 5C), pero no CCL11 (figura E3C) induce una migración de fibrocitos significativa de una manera dependiente de la dosis. De manera interesante, 100 ng/ml de CXCL12 alfa activaron una migración significativamente mayor de fibrocitos de pacientes con EPOC exacerbante, comparado con los fibrocitos procedentes de sujetos control (figura 5C), lo cual sugiere que los fibrocitos procedentes de pacientes con EPOC exacerbante tienen una mayor quimiosensibilidad al CXCL12, comparado con los fibrocitos procedentes de los controles. Esta respuesta fue completamente abolida por un tratamiento con plerixafor, lo cual demuestra que esta respuesta está completamente mediada por CXCR4 (figura 5D).

Listado de secuencias

30 <110> UNIVERSITE DE BORDEAUX
 INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE - INSERM
 CENTRE HOSPITALIER DE BORDEAUX

<120> Nuevas composiciones y métodos para tratar y/o prevenir la enfermedad pulmonar obstructiva crónica

<130> 1503-EPO

35 <160> 8

<170> Patent In version 3.3

<210> 1

<211> 7

<212> PRT

40 <213> humano

<400> 1

Leu Gly Thr Phe Leu Lys Cys
 1 5

<210> 2

<211> 5

45 <212> PRT

<213> humano

<400> 2

Leu Phe Thr Lys Cys
 1 5

<210> 3

50 <211> 5

<212> PRT
 <213> humano
 <400> 3
Cys Lys Thr Phe Leu
 1 5
 5 <210> 4
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> humano
 <400> 4
His Thr Leu Met Arg Asn Leu
 10 1 5
 <210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> humano
 15 <400> 5
Leu Asn Arg Met Leu Thr His
 1 5
 <210> 6
 <211> 7
 <212> PRT
 20 <213> humano
 <400> 6
Leu Asn Thr Phe Gln Glu Phe
 1 5
 <210> 7
 <211> 7
 25 <212> PRT
 <213> humano
 <400> 7
Phe Glu Gln Phe Thr Asn Leu
 1 5
 <210> 8
 30 <211> 4
 <212> PRT
 <213> humano
 <400> 8
Thr Phe Leu Lys
 1
 35

REIVINDICACIONES

- 1.- Una composición para su uso en un método para tratar y/o prevenir las EAEPOC, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de plerixafor como antagonista o inhibidor del receptor de quimioquinas CXCR4.
- 5 2.- Una composición farmacéutica para su uso en un método para tratar y/o prevenir las EAEPOC, que comprende la composición según la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 3.- Una composición farmacéutica para su uso en un método según la reivindicación 2, que comprende además broncodilatadores, corticoides y/o inhibidores de fosfodiesterasa.
- 10 4.- Una composición farmacéutica para un uso según la reivindicación 2 o 3, en la que dicha composición se administra por vía oral, bucal o sublingual, y está en forma de comprimidos, cápsulas (que incluyen cápsulas de gel blandas), múltiples partículas, geles, películas, elixires, disoluciones o suspensiones, que pueden contener agentes aromatizantes o colorantes, para aplicaciones de administración pulsátil o de liberación inmediata, retrasada, modificada, sostenida, dual o controlada.
- 15 5.- Una composición farmacéutica para un uso según la reivindicación 4, en la que dicha composición se administra mediante inhalación, y está en forma de un inhalador de polvo seco o una presentación de pulverizador en aerosol a partir de un recipiente presurizado, bomba, pulverizador o nebulizador.
- 6.- Un kit o envase farmacéutico para un uso en un método para tratar y/o prevenir las EAEPOC, que comprende una o más dosis de la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 2-5.

FIGURA 1

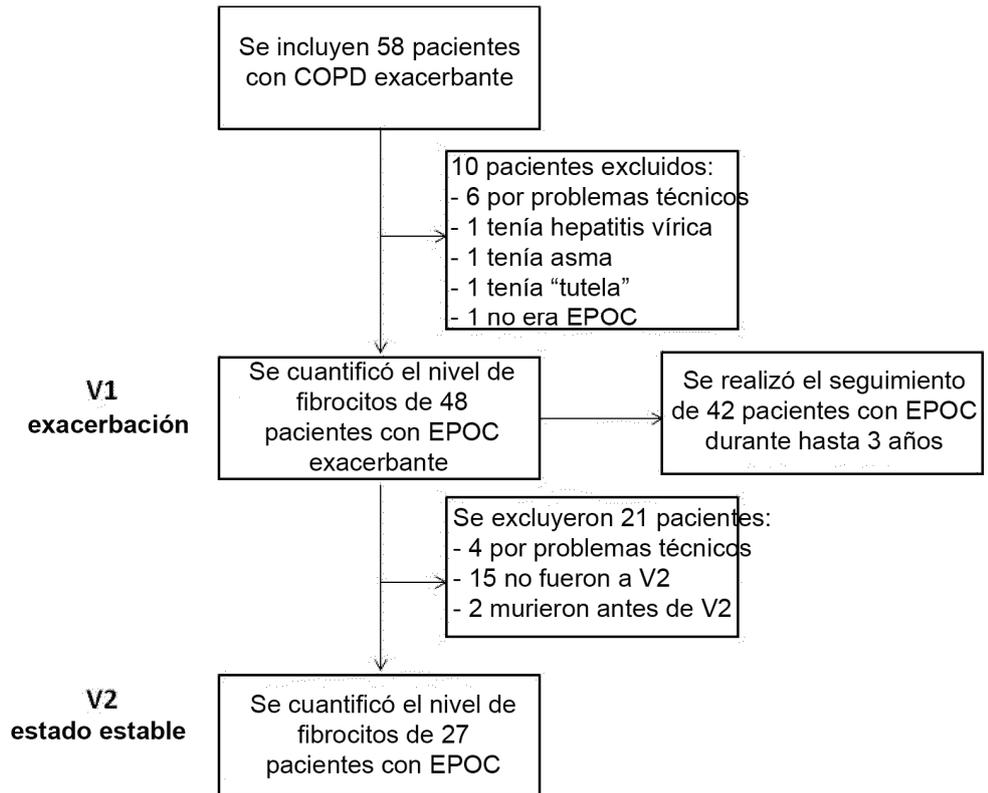


FIGURA 2

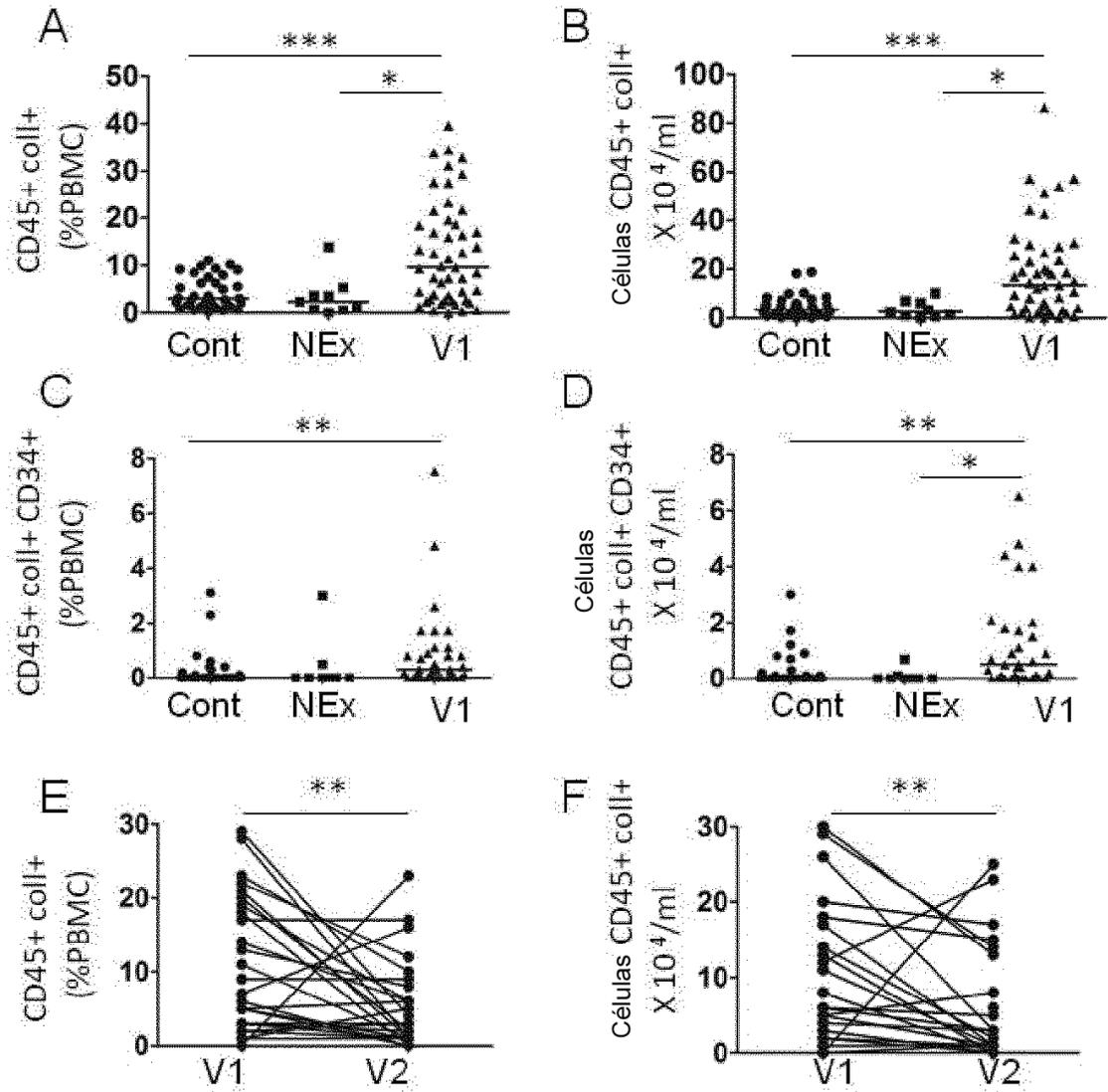


FIGURA 3

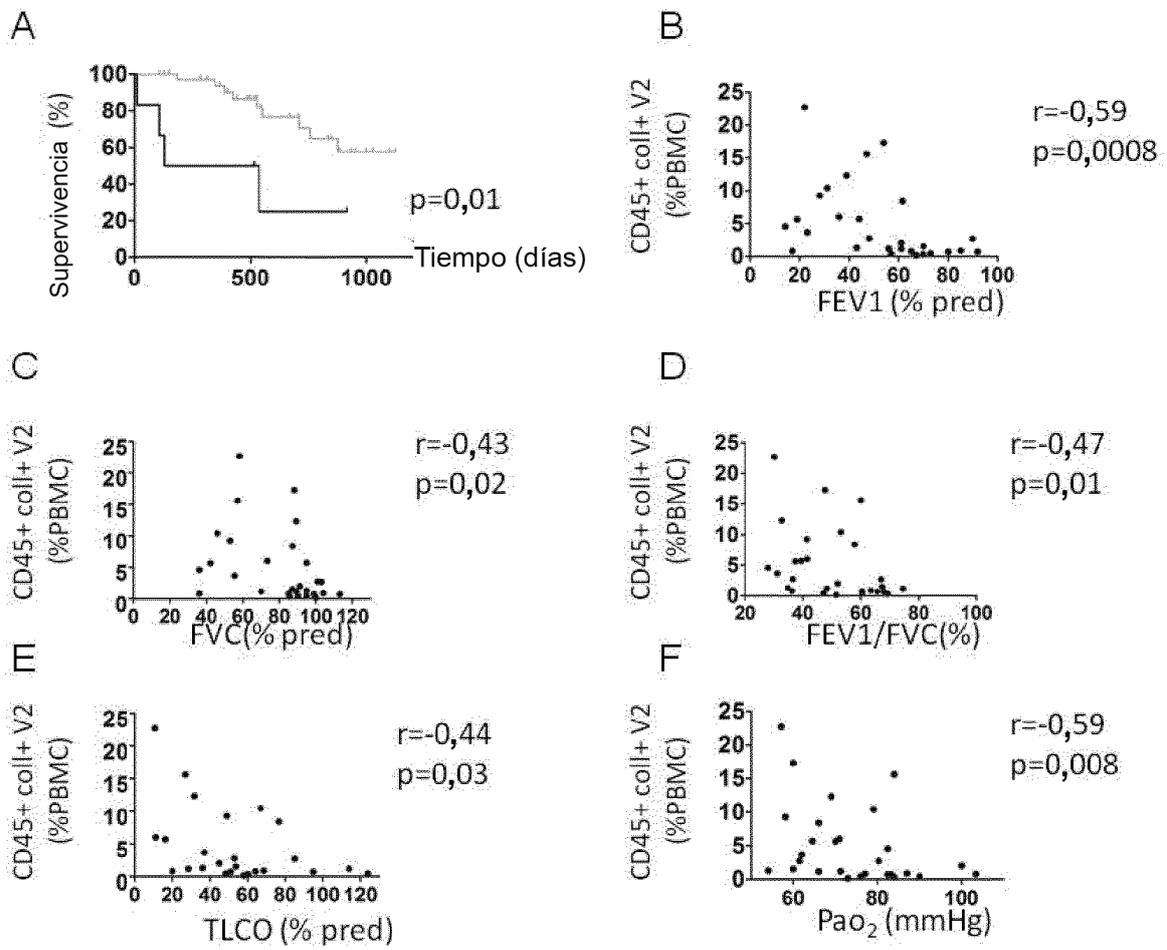


FIGURA 5

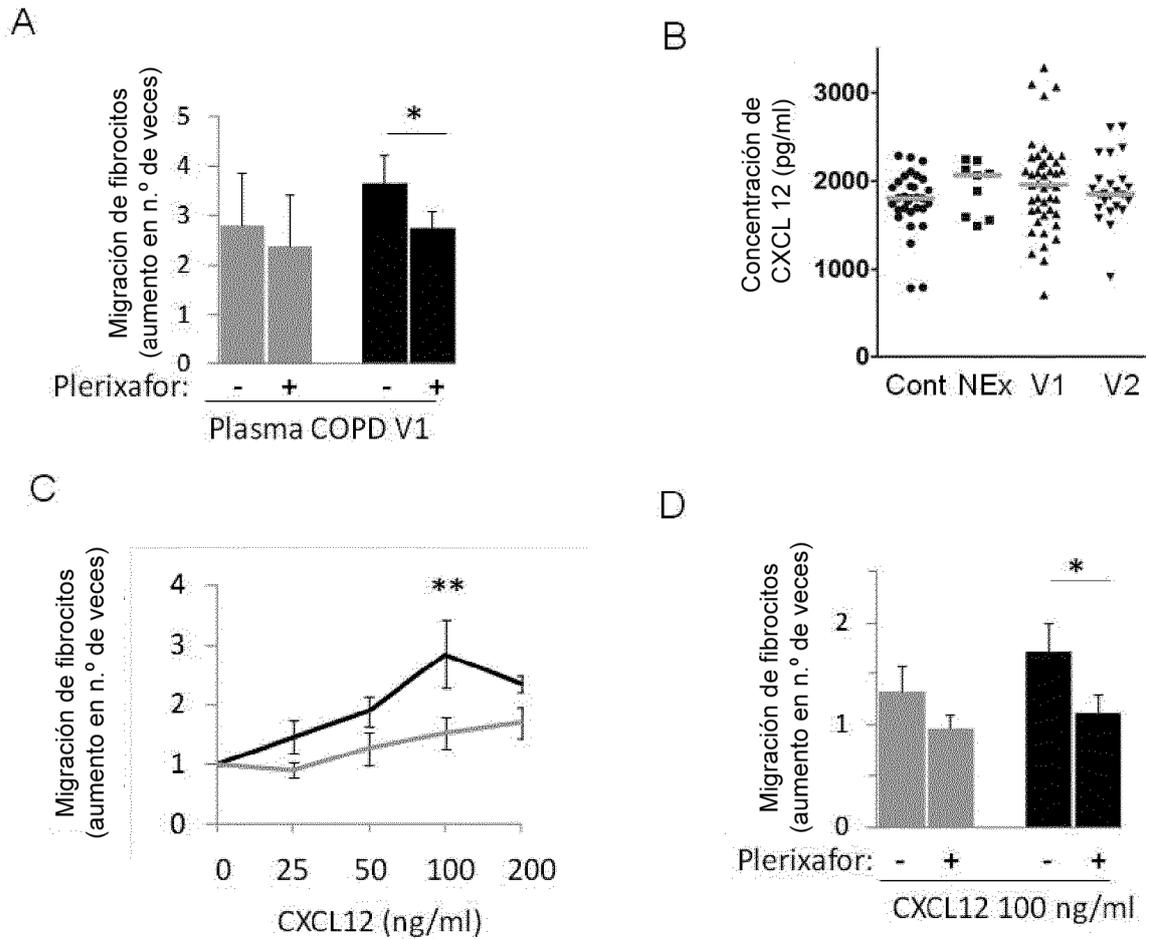


FIGURA 6

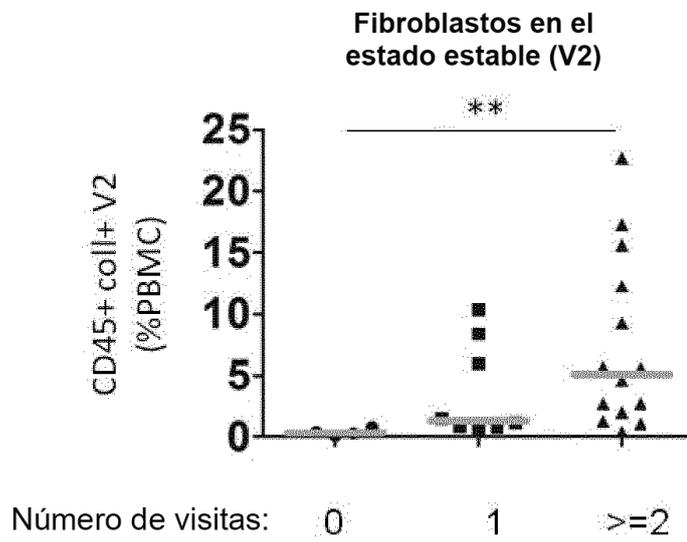


FIGURA 7

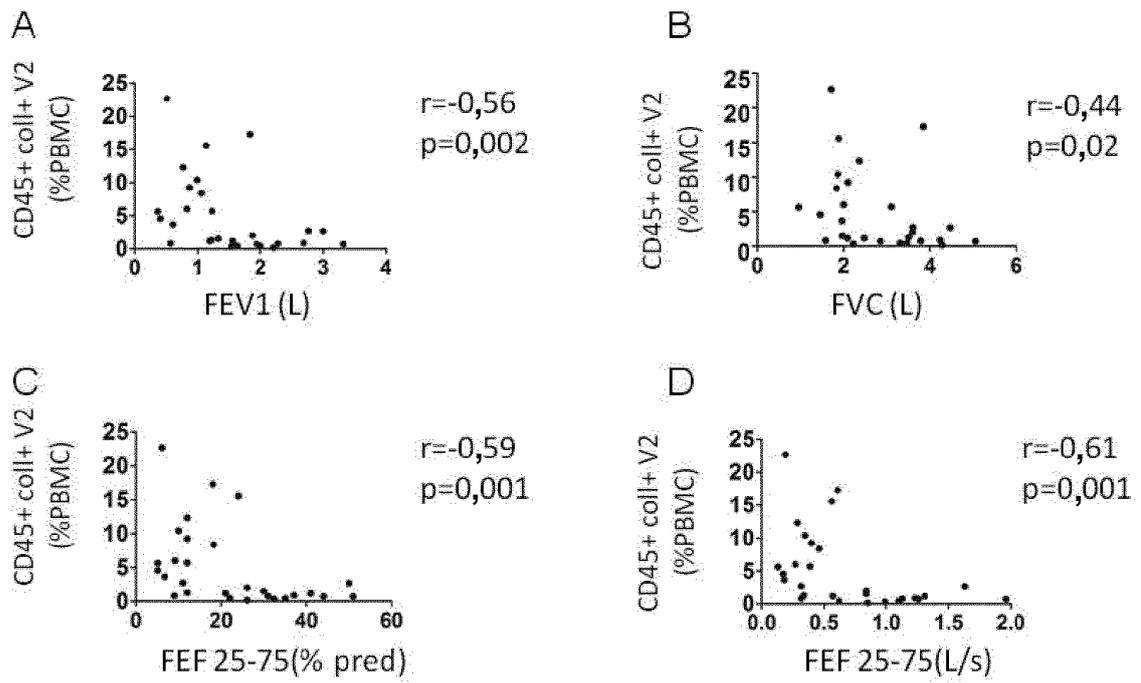


FIGURA 8

