

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 645**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.11.2004 E 08008814 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.09.2015 EP 1983000**

54 Título: **Método para el tratamiento de la esclerosis múltiple por inhibición de la actividad de IL-17**

30 Prioridad:

21.11.2003 GB 0327181
30.07.2004 GB 0417115

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.12.2015

73 Titular/es:

UCB BIOPHARMA SPRL (100.0%)
Allée de la Recherche 60
1070 Brussels, BE

72 Inventor/es:

CHRISTIE, MARK IAN;
MEAD, RICHARD JAMES;
ROBINSON, MARTYN KIM y
RAPECKI, STEPHEN EDWARD

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

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

ES 2 554 645 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

Método para el tratamiento de la esclerosis múltiple por inhibición de la actividad de IL-17

La presente invención se refiere generalmente al tratamiento de la esclerosis múltiple.

La interleuquina 17 (IL-17), también conocido como CTLA-8 o IL-17A, es una citoquina proinflamatoria que estimula la secreción de una amplia gama de otras citoquinas desde diversas células no inmunológicas. La IL-17 es capaz de inducir la secreción de IL-6, IL-8, PGE2, MCP-1 y G-CSF por células adherentes, tales como fibroblastos, queratinocitos, células epiteliales y endoteliales, y también es capaz de inducir la expresión sobre la superficie de ICAM-1, la proliferación de células T, y el crecimiento y diferenciación de células progenitoras humanas CD34+ en neutrófilos cuando se cocultivan en presencia de fibroblastos irradiados (Fossiez et al., 1998, *Int. Rev. Immunol.*, 16, 541-551). La IL-17 es producida predominantemente por células T de memoria activadas y actúa uniéndose a un receptor de la superficie celular distribuido de forma ubicua (IL-17R) (Yao et al., 1997, *Cytokine*, 9, 794-800). Se ha identificado una serie de homólogos de IL-17 que desempeñan papeles similares y diferenciados en la regulación de las respuestas inflamatorias. Para una revisión de las familias de citoquina IL-17/receptor véase Dumont, 2003, *Expert Opin. Ther. Patents*, 13, 287-303.

La IL-17 puede contribuir a una serie de enfermedades mediadas por respuestas inmunológicas anómalas, tales como artritis reumatoide e inflamación de las vías respiratorias, así como en el rechazo al trasplante de órganos y la inmunidad antitumoral. Los inhibidores de la actividad IL-17 son muy conocidos en la técnica, por ejemplo, se empleó una proteína de fusión IL-17R:Fc para demostrar el papel de IL-17 en la artritis inducida por colágeno (Lubberts et al., *J. Immunol.*, 2001, 167, 1004-1013) y se han empleado anticuerpos policlonales neutralizantes para reducir la formación de adhesión peritoneal (Chung et al., 2002, *J. Exp. Med.*, 195, 1471-1478). Los anticuerpos monoclonales neutralizantes están disponibles en el mercado (R&D Systems, Reino Unido).

La esclerosis múltiple ("multiple sclerosis", MS) es una enfermedad desmielinizante, inflamatoria y crónica del sistema nervioso central (SNC), que se cree que es el resultado de un ataque autoinmunitario coordinado contra antígenos de mielina. Existe una considerable heterogeneidad clínica y patológica en los pacientes con MS, y la secuencia de acontecimientos que inician la enfermedad permanece, en gran parte, desconocida. El avance clínico de la MS puede atribuirse en gran medida a tres procesos de enfermedad: inflamación, desmielinización, y pérdida axonal/neurodegeneración.

Se cree que las lesiones inflamatorias mediadas por inmunología dentro del SNC son el resultado, principalmente, de una infiltración de linfocitos CD4⁺ autorreactivos (Th1) que reconocen las proteínas de mielina presentadas sobre moléculas de MHC de clase II por las células que presentan antígenos. Esta interacción provoca la estimulación de las células Th1, que liberan citoquinas proinflamatorias (principalmente TNF- α e IFN- γ) que dan como resultado la proliferación de células T, la activación de células B y macrófagos, la sobreexpresión de moléculas de adhesión y la ruptura de la barrera hematoencefálica. Estos acontecimientos conducen, en último término, a la pérdida de oligodendrocitos y axones, y la formación de una placa desmielinizada. Ésta es una característica de la MS y consiste en una lesión demarcada en la que se ha perdido completamente la envuelta de mielina y los axones desmielinizados están rodeados de tejido de escara glial. La desmielinización también puede producirse como consecuencia del reconocimiento específico y opsonización de antígenos de mielina por autoanticuerpos. Se sugiere que el antígeno diana más importante es la proteína de mielina de oligodendrocitos (MOG), que está presente sobre la superficie de la envuelta de mielina. Entonces se produce la destrucción de la mielina opsonizada por anticuerpos, por el complemento o por macrófagos activados. Se cree que la pérdida axonal y la neurodegeneración posterior a la inflamación son responsables de la acumulación del deterioro neurológico irreversible, característico de la MS progresiva secundaria.

Las características clínicas de la MS varían de dolor de cabeza y visión borrosa a ataxia grave, ceguera y parálisis. La MS afecta a todas las edades pero los primeros síntomas aparecen, en general, entre los 18 y los 50 años, y se ha estimado que la duración de la enfermedad es de >25 años, muriendo una proporción significativa de pacientes por causas no relacionadas con la MS. En la mayoría de los pacientes (\approx 80%), la enfermedad toma un curso de recaída-remisión (RR-MS) con exacerbación de los síntomas, que aparece con rapidez (de horas a días), seguida de una recuperación lenta. La frecuencia y duración de las recaídas son impredecibles, pero presentan una media de 1,5 anuales y pueden ser seguidas de una recuperación completa. A medida que pasa el tiempo, la recuperación de las recaídas puede no ser completa y se produce un empeoramiento gradual de la enfermedad. Este empeoramiento de la enfermedad es independiente de la proporción de recaídas y se clasifica como MS progresiva secundaria (SP-MS), responsable de aproximadamente 10% de los pacientes de MS. El 10% restante de pacientes de MS presentan un curso progresivo primario (PP-MS), en el que la discapacidad empeora a una velocidad constante desde la aparición de la enfermedad.

Las terapias autorizadas en la actualidad son los beta-interferones: interferón beta-1b (Betaseron; Berlex), interferón beta-1a (Avonex; Biogen, Rebif; Serono), y acetato de glatimer (Copaxone; Teva). Se ha demostrado que estos agentes reducen la proporción de recaídas durante la fase de recaída-remisión de la enfermedad en aproximadamente 30% de los pacientes. En la actualidad no existe ningún método disponible para identificar a la población que responde antes de la terapia. Se emplean esteroides intravenosos (la prednisolona es la que se utiliza

más habitualmente) para acelerar la remisión después de la recaída pero no tiene una eficacia a largo plazo. El agente anticáncer mitoxantrona (*Novantrone*) está aprobado como inmunosupresor en pacientes progresivos con recaídas y progresivos secundarios, pero su uso y dosis está limitado por la cardiotoxicidad. En Europa, la azatioprina también se ha utilizado como inmunosupresor.

5 Las decisiones de prescripción parecen dirigidas por una medicina basada en evidencias, y un documento clave es un informe reciente de la American Association of Neurologists (Goodin D.S. et al.; *Neurology*, enero 2002, 22, 58(2):169-178). El consenso entre muchos neurólogos es que una terapia temprana y agresiva con beta-interferones resulta deseable para aumentar el tiempo hasta la primera recaída y limitar la carga global de la enfermedad, aunque se reconoce que no existen evidencias de que esta estrategia muestre un beneficio a largo plazo en la
10 puntuación de EDSS (una medida de la discapacidad relacionada con la enfermedad). Los beta-interferones se consideran una terapia subóptima, y el acetato de glatirimer se considera que tienen un mecanismo de acción diferente, lo cual puede permitir su utilización (por sí solo o en combinación) en pacientes que no respondan a los interferones. Una terapia individualizada basada en marcadores mecánicos (MRI, genéticos, neurológicos) de la enfermedad se ha considerado como un objetivo valioso, así como las terapias con un nuevo mecanismo de acción.
15 En la actualidad no existen marcadores de diagnóstico satisfactorios para la esclerosis múltiple.

Existe una necesidad evidente de terapias que modifiquen la enfermedad. Son necesarios agentes con diferentes mecanismos de acción, que podrían permitir adaptar la terapia a diferentes etapas de la enfermedad. Aún debe autorizarse un agente oralmente activo en la forma de recaída-remisión de la enfermedad, y éste representaría una clara mejora frente a la terapia actual si, junto con el mecanismo, vendría asociada una eficacia significativa.
20 Además, existe una necesidad evidente de terapias que muestren eficacia en las fases progresivas primarias o secundarias y que tengan un perfil de efectos secundarios razonable.

Se desconoce si la IL-17 desempeña algún papel en la patogénesis de la MS. Un análisis con micromatrices de lesiones de MS obtenidas en una autopsia ha revelado un mayor número de transcritos de muchos genes diferentes que codifican citoquinas inflamatorias, incluyendo IL-17 (Lock et al., 2002, *Nature Medicine*, 8, 500-508).
25 Se ha detectado un mayor número de células mononucleares que expresan IL-17 en la sangre y el fluido cerebroespinal de pacientes con MS (Matusevicius et al., 1999, *Multiple Sclerosis*, 5, 101-104) pero, como mencionan los autores, la expresión de ARNm de citoquinas no es necesariamente idéntica a la producción de proteínas de citoquinas.

De forma sorprendente, los inventores han sido capaces de demostrar que los inhibidores de la actividad IL-17 son activos en un modelo animal de MS. De forma específica, se ha podido demostrar que un anticuerpo anti-IL-17 que inhibe la actividad IL-17 es activo en modelos animales de MS.
30

La invención proporciona un inhibidor de la actividad IL-17 para uso en un método de tratamiento y/o profilaxis de la esclerosis múltiple de recaída-remisión (MS), en el que el inhibidor es una proteína de fusión IL-17R:Fc, o es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo funcionalmente activo de éste que se une a IL-17 o IL-17R.

35 La expresión "actividad IL-17", tal como se utiliza en la presente, se refiere al espectro de actividad entendida en la técnica para IL-17, por ejemplo, la inducción de la secreción de IL-6 o IL-8 desde fibroblastos por IL-17 (Yao et al., 1995, *Journal of Immunology*, 155, 5483-5486).

Un inhibidor de la actividad IL-17 según la presente invención interfiere con la actividad de IL-17, en particular con la actividad de IL-17 en la MS. Se prefieren particularmente los inhibidores que interfieren con la actividad de IL-17 en la MS en seres humanos. Los inhibidores según la presente invención pueden inhibir parcial o completamente la actividad IL-17. Los inhibidores de la actividad IL-17 son muy conocidos en la técnica, así como los métodos para identificar y producir estos inhibidores. Los ejemplos incluyen proteínas de fusión IL-17R:Fc (Lubberts et al., *J. Immunol.*, 2001, 167, 1004-1013), y anticuerpos neutralizantes (Chung et al., 2002, *J. Exp. Med.*, 195, 1471-1478; Ferretti, 2003, *Journal of Immunology*, 170, 2106-2112).
40

45 Más preferiblemente, un inhibidor para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de la MS es un anticuerpo que interaccione con (es decir, que se una o reconozca) IL-17 o su receptor, e inhiba la actividad de IL-17.

En un ejemplo, los anticuerpos interaccionan con IL-17 de forma selectiva. Interaccionar (por ejemplo, reconocer o unirse) de forma selectiva significa que los anticuerpos tienen una mayor afinidad por los polipéptidos de IL-17 que por otros polipéptidos. Los ejemplos de anticuerpos adecuados son aquéllos que inhiben la actividad de IL-17 mediante su unión a IL-17 de tal manera que evitan que sea biológicamente activa, por ejemplo, evitando la unión de IL-17 a su receptor.
50

En otro ejemplo, los anticuerpos interaccionan de forma selectiva con el receptor IL-17. Interaccionar (por ejemplo, reconocer o unirse) de forma selectiva significa que los anticuerpos tienen una mayor afinidad por los polipéptidos del receptor IL-17 que por otros polipéptidos. Los ejemplos de anticuerpos adecuados son aquéllos que inhiben la actividad de IL-17 evitando la señalización mediada por IL-17 desde el receptor, por ejemplo, evitando que IL-17 se una al receptor IL-17.
55

- Los polipéptidos de IL-17 o del receptor IL-17, o las células que expresan dichos polipéptidos, pueden emplearse para producir anticuerpos que reconozcan de forma específica dichos polipéptidos. Los polipéptidos de IL-17 y de IL-17R pueden ser polipéptidos "maduros" o sus derivados o fragmentos biológicamente activos. Los polipéptidos de IL-17 y IL-17R pueden prepararse mediante procesos muy conocidos en la técnica a partir de células hospedantes modificadas genéticamente que comprendan sistemas de expresión, o pueden recuperarse a partir de fuentes biológicas naturales. En la presente solicitud, el término "polipéptidos" incluye péptidos, polipéptidos y proteínas. Estos términos se utilizan de modo intercambiable, a menos que se indique lo contrario. En algunos casos, los polipéptidos de IL-17 o IL-17R pueden ser parte de una proteína mayor, tal como una proteína de fusión, por ejemplo, fusionada con un marcador de afinidad. Los anticuerpos generados contra estos polipéptidos pueden obtenerse administrando los polipéptidos a un animal, preferiblemente un animal no humano, utilizando protocolos conocidos y habituales; véase, por ejemplo, Handbook of Experimental Immunology, D.M. Weir (ed.), vol. 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, Reino Unido, 1986. Pueden inmunizarse muchos animales de sangre caliente, tales como conejos, ratones, ratas, ovejas, pollos, vacas o cerdos. Sin embargo, en general se prefieren los ratones, conejos, cerdos y ratas.
- Los anticuerpos anti-IL-17 y anti-receptor IL-17 para su uso en la presente invención incluyen anticuerpos enteros y sus derivados o fragmentos funcionalmente activos, y pueden ser, pero no se limitan a anticuerpos policlonales, monoclonales, multivalentes, multiespecíficos, humanizados o quiméricos, anticuerpos monocatenarios, fragmentos Fab, fragmentos Fab' y F(ab')₂, fragmentos producidos por un banco de expresión de Fab, anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id), y fragmentos de unión al epitopo de cualquiera de los anteriores. Los anticuerpos incluyen moléculas de inmunoglobulina y porciones inmunológicamente activas de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen un sitio de unión al antígeno que se une a un antígeno de forma específica. Las moléculas de inmunoglobulina de la invención pueden ser de cualquier clase (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD y IgA) o subclase de molécula de inmunoglobulina.
- Pueden prepararse anticuerpos monoclonales mediante cualquier método conocido en la técnica, tal como la técnica de hibridoma (Kohler y Milstein, 1975, Nature, 256:495-497), la técnica de trioma, la técnica de hibridoma de células B humanas (Kozbor et al., 1983, Immunology Today, 4:72), y la técnica de hibridoma-EBV (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, pp. 77-96, Alan R. Liss, Inc., 1985).
- Los anticuerpos para su uso en la invención también pueden generarse utilizando métodos de anticuerpos de linfocitos individuales mediante la clonación y expresión de ADNc de la región variable de inmunoglobulinas generado a partir de linfocitos individuales seleccionados para la producción de anticuerpos específicos, por ejemplo, mediante los métodos descritos en Babcook, J. et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 93(15):7843-7848, y en el documento WO92/02551.
- Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpo procedentes de una especie no humana que tienen una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) procedentes de una especie no humana, y una región marco procedente de una molécula de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, el documento US 5.585.089).
- Los anticuerpos quiméricos son aquellos anticuerpos codificados por genes de inmunoglobulina que se han modificado genéticamente de forma que los genes de la cadena ligera y pesada están compuestos de segmentos de genes de inmunoglobulina que pertenecen a diferentes especies. Es probable que estos anticuerpos quiméricos sean menos antigénicos. Pueden prepararse anticuerpos bivalentes mediante métodos conocidos en la técnica (Milstein et al., 1983, Nature, 305:537-539; WO 93/08829, Traunecker et al., 1991, EMBO J. 10: 3655-3659). Los anticuerpos multivalentes pueden comprender múltiples especificidades o pueden ser mono-específicos (véase, por ejemplo, el documento WO 92/22853).
- Los anticuerpos para uso en la presente invención también pueden generarse mediante diversos métodos de presentación de fagos conocidos en la técnica y que incluyen los descritos por Brinkman et al. (en J. Immunol. Methods, 1995, 182: 41-50), Ames et al. (J. Immunol. Methods, 1995, 184: 177-186), Kettleborough et al. (Eur. J. Immunol. 1994, 24: 952-958), Persic et al. (Gene, 1997 187: 9-18), Burton et al. (Advances in Immunology, 1994, 57: 191-280) y las solicitudes internacionales de patente WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; WO 95/20401; y las patentes de EE.UU. 5.698.426; 5.223.409; 5.403.484; 5.580.717; 5.427.908; 5.750.753; 5.821.047; 5.571.698; 5.427.908; 5.516.637; 5.780.225; 5.658.727; 5.733.743 y 5.969.108. Las técnicas para la producción de anticuerpos monocatenarios, tales como los descritos en el documento US 4.946.778, también pueden adaptarse para producir anticuerpos monocatenarios contra polipéptidos de IL-17 o IL-17R. Además pueden emplearse ratones transgénicos u otros organismos, incluyendo otros mamíferos, para expresar los anticuerpos humanizados.
- Los fragmentos de anticuerpos y los métodos para producirlos son muy conocidos en la técnica; véase, por ejemplo, Verma et al., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181.
- Los ejemplos concretos de fragmentos de anticuerpos para su uso en la presente invención son los fragmentos Fab' que poseen una región bisagra nativa o modificada. Ya se ha descrito una serie de regiones bisagra modificadas, por ejemplo, en los documentos US 5.677.425, WO9915549 y WO9825971.

Los ejemplos adicionales de fragmentos de anticuerpo particulares para uso en la presente invención incluyen los escritos en las solicitudes de patente internacional WO2005025349, WO2005003170, WO2005003171.

En particular, se prefieren los fragmentos de anticuerpos Fab modificados descritos en la solicitud de patente internacional PCT/GB2004/002810. Estos fragmentos Fab comprenden una pareja de cadena pesada y ligera, V_H/C_H1 y V_L/C_L , unidas covalentemente a través de cisteínas intercatenarias en las regiones constantes de la cadena pesada y ligera, y se caracterizan porque la región constante de la cadena pesada termina en la cisteína intercatenaria de C_H1 . La expresión "cisteína intercatenaria" se refiere a una cisteína en la región constante de la cadena pesada o ligera que estaría unida mediante un enlace disulfuro a una cisteína en la correspondiente región constante de la cadena pesada o ligera codificada por un gen de anticuerpo de la línea germinal que aparece en la naturaleza. En particular, las cisteínas intercatenarias son una cisteína en la región constante de la cadena ligera (C_L) y una cisteína en la primera región constante de la cadena pesada (C_H1) que están unidas entre sí mediante enlaces disulfuro en los anticuerpos que aparecen en la naturaleza. Los ejemplos de estas cisteínas pueden encontrarse, de forma típica, en la posición 214 de la cadena ligera y en la posición 233 de la cadena pesada de la IgG1 humana, en la posición 127 de la cadena pesada de las IgM, IgE, IgG2, IgG3 e IgG4 humanas, y en la posición 128 de la cadena pesada de las IgD y IgA2B humanas, según se define en Kabat et al., 1987, en Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services, NIH, EEUU. En las IgG murinas, las cisteínas intercatenarias pueden encontrarse en la posición 214 de la cadena ligera y en la posición 235 de la cadena pesada. Se apreciará que las posiciones exactas de estas cisteínas pueden variar de las que aparecen en los anticuerpos que aparecen en la naturaleza, si se han producido modificaciones, tales como deleciones, inserciones y/o sustituciones en el fragmento de anticuerpo Fab. Estos fragmentos de anticuerpos Fab pueden prepararse mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, el fragmento de anticuerpo Fab puede obtenerse a partir de cualquier anticuerpo entero, en especial un anticuerpo monoclonal entero, utilizando cualquier técnica adecuada de digestión y/o ruptura enzimática, por ejemplo, mediante un tratamiento con pepsina o papaína y proteasas c-terminales. Preferiblemente, estos fragmentos de anticuerpos Fab se preparan mediante el uso de técnicas de ADN recombinante que implican la manipulación y reexpresión de ADN que codifica regiones variables y constantes del anticuerpo. Pueden emplearse técnicas de biología molecular convencionales para modificar, añadir o delecionar otros aminoácidos o dominios, según se desee. Cualquier alteración de las regiones variables o constantes sigue incluyéndose en los términos regiones "variable" y "constante", tal como se emplean en la presente. Preferiblemente se utiliza una PCR para introducir un codón de terminación inmediatamente después del codón que codifica la cisteína intercatenaria de C_H1 , de forma la traducción del dominio de C_H1 se detenga en la cisteína intercatenaria. Los métodos para diseñar cebadores de PCR adecuados son muy conocidos en la técnica, y se encuentran disponibles con facilidad las secuencias de los dominios de C_H1 de anticuerpos (Kabat *et al.*, *supra*). Alternativamente se pueden introducir codones de parada utilizando técnicas de mutagénesis dirigida al sitio tales como las descritas en White (Ed.), PCR Protocols: Current Methods and Applications (1993). En un ejemplo, las regiones constantes en estos fragmentos se derivan de IgG1, y la cisteína intercatenaria de C_L está en la posición 214 de la cadena ligera y la cisteína intercatenaria de C_H1 está en la posición 233 de la cadena pesada. Los ejemplos de secuencias de la región constante humana y murina para su uso en estos fragmentos se proporcionan en SEQ ID NO:1-4 y la figura 13; la región constante de cadena pesada C_H1 humana que termina en la cisteína intercatenaria (SEQ ID NO:1); la región constante de cadena ligera humana (SEQ ID NO:2); la región constante de cadena pesada C_H1 murina que termina en la cisteína intercatenaria (SEQ ID NO:3); y la región constante de cadena ligera murina (SEQ ID NO:4).

Si se desea, un anticuerpo para su uso en la presente invención puede conjugarse con una o más moléculas efectoras. La expresión molécula efectora, tal como se utiliza en la presente, incluye, por ejemplo, agentes antineoplásicos, fármacos, toxinas, proteínas biológicamente activas, por ejemplo enzimas, otros anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, polímeros sintéticos o que aparecen en la naturaleza, ácidos nucleicos y sus fragmentos, por ejemplo ADN, ARN y sus fragmentos, radionúclidos, en particular radioyodo, radioisótopos, metales quelados, nanopartículas y grupos indicadores, tales como compuestos fluorescentes o compuestos que pueden detectarse mediante RMN o espectroscopía ESR. En un ejemplo, pueden conjugarse anticuerpos anti-IL-17 o anti-IL-17R con una molécula efectora, tal como un agente citotóxico, un radionúclido o un resto fármaco para modificar una respuesta biológica dada. Por ejemplo, el agente terapéutico puede ser un resto fármaco que puede ser una proteína o polipéptido que posea una actividad biológica deseada. Estos restos pueden incluir, por ejemplo y sin limitación, una toxina, tal como abrina, ricina A, la exotoxina de Pseudomonas o la toxina de la difteria, una proteína, tal como el factor de necrosis tumoral, α -interferón, β -interferón, el factor del crecimiento nervioso, el factor del crecimiento derivado de plaquetas o el activador del plasminógeno tisular, un agente trombótico o un agente antiangiogénico, por ejemplo, angiostatina o endostatina, o un modificador de la respuesta biológica, tal como una linfoquina, interleuquina-1 (IL-1), interleuquina-2 (IL-2), interleuquina-6 (IL-6), el factor estimulante de colonias de macrófagos granulocitos (GM-CSF), el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), el factor del crecimiento nervioso (NGF) u otro factor del crecimiento.

En otro ejemplo, las moléculas efectoras pueden ser citotoxinas o agentes citotóxicos, que incluyen cualquier agente que sea perjudicial para las células (por ejemplo, que las mate). Los ejemplos incluyen taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorrubicina, dihidroxiantracindiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-desdihidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol, y puromicina y sus análogos u

homólogos. Las moléculas efectoras también incluyen, pero no se limitan a antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracil descarbazina), agentes alquilantes (por ejemplo, mecloretamina, tioepa cloranbucilo, melfalano, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclotosfamida, busulfano, dibromomanitol, estreptoizotocina, mitomicina C, y cis-diclorodiamina-platino (II) (DDP), cisplatina, antraciclinas (por ejemplo, daunorrubicina (antes denominada daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (antes denominada actinomicina), bleomicina, mitramicina, antramicina (AMC), caliqueamicinas o duocarmicinas), y agentes antimetabólicos (por ejemplo, vincristina y vinblastina).

Otras moléculas efectoras pueden incluir radionúclidos, tales como ^{111}In y ^{90}Y , Lu^{177} , bismuto 213 , californio 252 , iridio 192 y wolframio 188 /renio 188 , o fármacos, tales como, pero sin limitarse a alquilfosfolinas, inhibidores de la topoisomerasa I, taxoides y suramina. Las técnicas para conjugar dichas moléculas efectoras a anticuerpo son bien conocidas en la técnica (véase, Hellstrom et al., *Controlled Drug Delivery*, 2ª Ed., Robinson et al., eds., 1987, pág. 623-53; Thorpe et al., 1982, *Immunol. Rev.*, 62: 119-58 and Dubowchik et al., 1999, *Pharmacology and Therapeutics*, 83, 67-123). En un ejemplo, el anticuerpo o su fragmento se fusiona a través de un enlace covalente (por ejemplo, un enlace peptídico), opcionalmente en el N-terminal o en el C-terminal, con una secuencia de aminoácidos de otra proteína (o su porción; preferiblemente una porción de al menos 10, 20 ó 50 aminoácidos de la proteína). Preferiblemente, el anticuerpo, o su fragmento, se une a la otra proteína en el N-terminal del dominio constante del anticuerpo. Pueden utilizarse procedimientos de ADN recombinante para crear estas fusiones, por ejemplo, como se describe en los documentos WO 86/01533 y EP 0392745.

En otro ejemplo, la molécula efectora puede aumentar la semivida *in vivo* y/o disminuir la inmunogenicidad y/o potenciar el transporte de un anticuerpo a través de la barrera epitelial hasta el sistema inmunológico. Los ejemplos de moléculas efectoras adecuadas incluyen polímeros y proteínas, tales como albúmina y proteína de unión a la albúmina. Los ejemplos de polímeros adecuados incluyen cualquier polímero sintético o que aparece en la naturaleza sustancialmente hidrosoluble, sustancialmente no antigénico que incluye, por ejemplo, polímeros de polialquileno, polialquilenilo o polioxialquilenilo de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituidos, o polisacáridos ramificados o no ramificados, por ejemplo, un homo- o heteropolisacárido, tal como lactosa, amilosa, dextrano o glucógeno. Los sustituyentes opcionales concretos que pueden estar presentes en los polímeros sintéticos mencionados anteriormente incluyen uno o más grupos hidroxilo, metilo o metoxi. Los ejemplos concretos de polímeros sintéticos incluyen polietilenglicol, polipropilenglicol y poli(alcohol vinílico) de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituidos, o sus derivados, en especial polietilenglicol opcionalmente sustituido, tal como metoxipolietilenglicol. Preferiblemente, el polímero es un polióxido de alquileno, tal como polietilenglicol (PEG).

En un ejemplo, los anticuerpos para su uso en la presente invención están unidos a restos polietilenglicol (PEG). En un ejemplo concreto, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo y las moléculas de PEG pueden unirse a través de cualquier grupo funcional aminoácido de la cadena lateral o terminal disponible localizado en el fragmento de anticuerpo, por ejemplo, cualquier grupo amino, imino, tiol, hidroxilo o carboxilo libre. Estos aminoácidos pueden aparecer de forma natural en el fragmento de anticuerpo, o pueden introducirse en el fragmento utilizando métodos de ADN recombinante. Véase, por ejemplo, el documento US 5.219.996. Pueden emplearse múltiples sitios para unir dos o más moléculas de PEG. Preferiblemente, las moléculas de PEG están unidas covalentemente a un grupo tiol de al menos un resto cisteína localizado en el fragmento de anticuerpo. Cuando se emplea un grupo tiol como punto de unión, pueden utilizarse moléculas efectoras activadas de forma apropiada, por ejemplo, derivados selectivos de tiol, tales como maleimidias, y derivados de cisteína.

Preferiblemente, el anticuerpo es un fragmento Fab modificado, tal como un Fab' que está PEGilado, es decir, tiene PEG (polietilenglicol) unido covalentemente a él, por ejemplo, según el método descrito en el documento EP 0948544 [véase también "Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications", 1992, J. Milton Harris (ed.), Plenum Press, Nueva York; "Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications", 1997, J. Milton Harris y S. Zalipsky (eds), American Chemical Society, Washington DC; "Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences", 1998, M. Aslam y A. Dent, Grove Publishers, Nueva York; Chapman, A., 2002, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002, 54:531-545]. La cantidad total de PEG unida al fragmento puede variarse según se desee pero, en general, se encontrará en un intervalo de peso molecular medio de 250 a 100.000 Da, preferiblemente de 5.000 a 50.000 Da, más preferiblemente de 10.000 a 40.000 Da, y aún más preferiblemente de 20.000 a 40.000 Da. El tamaño del PEG puede seleccionarse, en particular, basándose en el uso previsto del producto, por ejemplo, la capacidad para dirigirse a ciertos tejidos, tales como tumores, o aumentar la semivida en circulación (para un informe, véase Chapman, 2002, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 531-545).

En una realización, el PEG se une a una cisteína en la región bisagra de un Fab'. En un ejemplo, un fragmento Fab' modificado con PEG tiene un grupo maleimida unido covalentemente a un único grupo tiol en una región bisagra modificada. Un resto lisina puede unirse covalentemente al grupo maleimida, y a cada uno de los grupos amina sobre el resto lisina puede unirse un polímero de metoxipolietilenglicol que tenga un peso molecular de aproximadamente 20.000 Da. Por tanto, el peso molecular total del PEG unido al fragmento Fab' puede ser de aproximadamente 40.000 Da.

En otra realización preferida, un fragmento de anticuerpo para su uso en la presente invención es un fragmento Fab' PEGilado (es decir, tiene PEG (polietilenglicol) unido covalentemente a él), según se describe en la solicitud internacional nº PCT/GB2004/002810 (presentada el 1 de julio, 2004). Este fragmento Fab' PEGilado es un

- fragmento Fab en el que las terminaciones de la cadena pesada en la cisteína intercatenaria de C_{H1} y el PEG unido al fragmento, preferiblemente PEG-maleimida, están unidas covalentemente a la cisteína intercatenaria de C_L y la cisteína intercatenaria de C_{H1}. Preferiblemente, la cisteína intercatenaria de C_L está en la posición 214 de la cadena ligera y la cisteína intercatenaria de C_{H1} está en la posición 233 de la cadena pesada. Tal como se analizó anteriormente, la cantidad total de PEG unida al fragmento puede variarse según se desee. En un ejemplo, cada polímero unido al Fab preferiblemente tiene un peso molecular de aproximadamente 20.000 Da. Por ejemplo, el peso molecular puede ser de 15.000-25.000 Da, o preferiblemente de 18.000-22.000Da, y aún más preferiblemente de 19.000-21.000 Da. Por tanto, el peso molecular total del PEG unido al anticuerpo es de aproximadamente 40.000 Da.
- El PEG se une a estos fragmentos reduciendo, en primer lugar, el enlace disulfuro intercatenario entre las cisteínas intercatenarias de C_L y C_{H1} y posteriormente uniendo el PEG a los tioles libres. Cuando el PEG se une a las cisteínas intercatenarias no existe un enlace disulfuro intercatenario entre la cadena pesada y ligera. Los agentes reductores adecuados para reducir el enlace disulfuro intercatenario son muy conocidos en la técnica, por ejemplo, aquéllos descritos en Singh et al., 1995, *Methods in Enzymology*, 251, 167-173. Los ejemplos concretos incluyen agentes reductores basados en tiol, tales como glutatión reducido (GSH), β-mercaptoetanol (β-ME), β-mercaptoetilamina (β-MA) y ditioneitol (DTT). Otros métodos incluyen la utilización de métodos electrolíticos, tal como el método descrito en Leach et al., 1965, *Div. Protein. Chem.*, 4, 23-27, y la utilización de métodos de fotorreducción, tal como el método descrito en Ellison et al., 2000, *Biotechniques*, 28(2), 324-326. Sin embargo, preferiblemente el agente reductor es un agente reductor que no está basado en tiol, preferiblemente uno de los agentes reductores de trialquilfosfina (Ruegg, U.T. y Rudinger, J., 1977, *Methods in Enzymology*, 47, 111-126; Burns J. et al., 1991, *J. Org. Chem.*, 56, 2648-2650; Getz et al., 1999, *Analytical Biochemistry*, 273, 73-80; Han y Han, 1994, *Analytical Biochemistry*, 220, 5-10; Seitz et al., 1999, *Euro. J. Nuclear Medicine*, 26, 1265-1273), cuyos ejemplos concretos incluyen tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP), tris-butilfosfina (TBP), tris-(2-cianoetil)fosfina, tris-(3-hidroxipropil)fosfina (THP) y tris-(2-hidroxietil)fosfina. Los agentes reductores más preferidos son TCEP y THP. Para una experto en la técnica será evidente que la concentración del agente reductor puede determinarse empíricamente, por ejemplo, variando la concentración del agente reductor y midiendo el número de tioles libres producidos. De forma típica, el agente reductor se emplea en exceso frente al fragmento de anticuerpo, por ejemplo, en un exceso molar entre 2 y 1000 veces. Preferiblemente, el agente reductor está en un exceso de 2, 3, 4, 5, 10, 100 ó 1000 veces. En una realización, el reductor se utiliza entre 2 y 5 mM.
- Las reacciones de reducción y PEGilación pueden realizarse, en general, en un disolvente, por ejemplo, una disolución tampón acuosa, tal como acetato o fosfato, a aproximadamente pH neutro, por ejemplo, de aproximadamente pH 4,5 a aproximadamente pH 8,5, de forma típica de pH 4,5 a 8, de forma adecuada de pH 6 a 7. Las reacciones pueden realizarse, en general, a cualquier temperatura adecuada, por ejemplo, entre aproximadamente 5°C y aproximadamente 70°C, por ejemplo, a temperatura ambiente. El disolvente puede contener opcionalmente un agente quelante, tal como EDTA, EGTA, CDTA o DTPA. Preferiblemente, el disolvente contiene EDTA entre 1 y 5 mM, preferiblemente 2 mM. Como alternativa, o además, el disolvente puede ser un tampón quelante, tal como ácido cítrico, ácido oxálico, ácido fólico, bicina, tricina, tris o ADA. El PEG se empleará, en general, en una concentración en exceso con respecto a la concentración del fragmento de anticuerpo. De forma típica, el PEG está en un exceso molar de entre 2 y 100 veces, preferiblemente en un exceso de 5, 10 ó 50.
- Cuando sea necesario, el producto deseado que contiene el número deseado de moléculas de PEG puede separarse de cualquier material de partida u otro producto generado durante el proceso de producción mediante medios convencionales, por ejemplo, mediante técnicas de cromatografía, tales como cromatografía de intercambio iónico, de exclusión molecular, de afinidad de proteína A, G o L, o cromatografía de interacción hidrófoba.
- Para identificar los inhibidores de la actividad IL-17 los expertos en la técnica pueden utilizar una serie de estrategias diferentes. En un ejemplo, los inhibidores se identifican identificando en primer lugar los agentes que interaccionan con IL-17 o IL-17R y después ensayando estos agentes para identificar aquéllos que inhiben la actividad IL-17. En el contexto de la presente invención, el agente es un anticuerpo o proteína de fusión IL-17R:Fc.
- Los agentes que interaccionan con IL-17 o IL-17R pueden identificarse utilizando cualquier método adecuado, por ejemplo, empleando un sistema de ensayo exento de células o basado en células, en el cual el polipéptido de IL-17 o IL-17R se pone en contacto con un agente candidato, y se determina la capacidad del agente candidato para interaccionar con el polipéptido. Preferiblemente, la capacidad de un agente candidato para interaccionar con un polipéptido de IL-17 o IL-17R se compara con un intervalo de referencia o control. Si se desea, este ensayo puede emplearse para seleccionar una pluralidad (por ejemplo, un banco) de agentes candidatos utilizando una pluralidad de muestras de polipéptidos de IL-17 o IL-17R. En un ejemplo de un ensayo exento de células, una primera y una segunda muestra que comprenden un polipéptido de IL-17 o IL-17R nativo o recombinante se ponen en contacto con un agente candidato o un agente control, y se determina la capacidad del agente candidato para interaccionar con el polipéptido comparando la diferencia en la interacción entre el agente candidato y el agente control. Preferiblemente, en primer lugar el polipéptido se inmoviliza, por ejemplo, poniendo en contacto el polipéptido con un anticuerpo inmovilizante que lo reconozca específicamente y se una a él, o poniendo en contacto una preparación purificada de polipéptido con una superficie diseñada para unir proteínas. El polipéptido puede estar parcial o totalmente purificado (por ejemplo, estar parcial o totalmente exento de otros polipéptidos) o ser parte de un lisado de células. Además, el polipéptido puede ser una proteína de fusión que comprende el polipéptido de IL-17 o IL-17R, o una

porción biológicamente activa de éste, y un dominio, tal como glutatión-S-transferasa o la región Fc de IgG1. Como alternativa, el polipéptido puede biotinilarse utilizando técnicas muy conocidas por los expertos en la técnica (por ejemplo, el kit de biotinylación de Pierce Chemicals; Rockford, IL). La capacidad del agente candidato para interactuar con el polipéptido puede determinarse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, ELISA, BIAcore™, citometría de flujo o la tecnología de ensayo de microvolúmenes fluorescente (FMAT). En otro ejemplo en el que se utiliza un ensayo basado en células, una población de células que expresan IL-17 o IL-17R se pone en contacto con un agente candidato, y se determina la capacidad del agente candidato para interactuar con el polipéptido. Preferiblemente, la capacidad de un agente candidato para interactuar con IL-17 o IL-17R se compara con un intervalo de referencia o control. La célula, por ejemplo, puede ser de origen eucariota (por ejemplo, de levadura o mamífero) y puede expresar el polipéptido de IL-17 o IL-17R de forma endógena, o puede modificarse genéticamente para que exprese el polipéptido. En algunos casos, el polipéptido de IL-17 o IL-17R o el agente candidato se marca, por ejemplo, con un marcador radiactivo (tal como ³²P, ³⁵S o ¹²⁵I) o un marcador fluorescente (tal como isotiocianato de fluoresceína, rodamina, ficoeritrina, ficocianina, alofococianina, o-ftaldehído o fluorescamina) para permitir la detección de una interacción entre un polipéptido y un agente candidato. También pueden emplearse métodos alternativos, tales como ELISA, citometría de flujo y FMAT.

Los agentes que inhiben la actividad IL-17 pueden identificarse mediante cualquier método adecuado, por ejemplo:

(i) comparando la actividad de IL-17 en presencia de un agente candidato con la actividad de dicho polipéptido en ausencia del agente candidato o en presencia de un agente control; y

(ii) determinando si el agente candidato inhibe la actividad de IL-17.

Estos ensayos pueden emplearse para seleccionar agentes candidatos, en controles clínicos o en el desarrollo de fármacos.

Tal como se describió anteriormente, los agentes puede preseleccionarse cuando resulte apropiado para identificar agentes (por ejemplo, un anticuerpo) que interactúen con IL-17 o IL-17R antes de seleccionar aquellos agentes que se unen por su capacidad para inhibir la actividad IL-17.

En un ejemplo se utiliza un sistema de ensayo basado en células para identificar agentes capaces de inhibir la actividad de IL-17. En un ejemplo concreto, el ensayo utilizado para identificar inhibidores de la actividad IL-17 es el ensayo de liberación de IL-6 desde fibroblastos convencional (Yao et al., 1995, *Journal of Immunology*, 155, 5483-5486). Se añaden inhibidores potenciales al ensayo y se determina la liberación de IL-6 mediante ELISA. Por tanto, la inhibición se mide como una reducción en la liberación de IL-6 comparada con controles.

Pueden identificarse agentes que inhiban la actividad de IL-17 o ensayarse más a fondo, por ejemplo, para determinar las cantidades terapéuticamente eficaces en uno o más modelos animales. Los ejemplos de animales adecuados incluyen, pero no se limitan a ratones, ratas, conejos, monos, cobayas, perros y gatos. Preferiblemente, el animal utilizado representa un modelo de MS.

En otro ejemplo, la inhibición de la actividad IL-17 puede determinarse controlando una mejoría en los síntomas de la enfermedad, un retraso en la aparición o una progresión lenta de la enfermedad, por ejemplo, pero sin limitación, una reducción en la parálisis. Pueden utilizarse técnicas conocidas por los médicos familiarizados con la MS para determinar si un agente candidato ha alterado uno o más síntomas asociados con la enfermedad.

En la técnica se conoce una serie de diferentes modelos de MS (t Hart y Amor, 2003, *Current Opinion in Neurology*, 16:375-383). En particular, la encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE) en ratones ABH se considera un modelo pertinente para la MS en seres humanos (Baker et al., 1990, *Journal of Neuroimmunology*, 28:261-270). Se han desarrollado modelos agudos y de recaída-remisión.

Tal como se analiza en la presente, los inhibidores de la actividad IL-17 pueden utilizarse en el tratamiento y/o profilaxis de la MS. Para este uso, los agentes se administrarán, en general, en forma de una composición farmacéutica.

También se describe una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la actividad IL-17 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La composición se suministra habitualmente como parte de una composición farmacéutica estéril que normalmente incluye un vehículo farmacéuticamente aceptable. Esta composición puede estar en cualquier forma adecuada (dependiendo del método deseado de administración a un paciente).

Los inhibidores para su uso en la invención se administran al sujeto preferiblemente mediante una diversidad de vías diferentes, tales como la vía oral, transdérmica, subcutánea, intranasal, intravenosa, intramuscular, intratecal e intracerebroventricular. La vía más adecuada para la administración en cualquier caso concreto dependerá del inhibidor particular, el sujeto, y la naturaleza y gravedad de la enfermedad y el trastorno físico del sujeto.

Los inhibidores para su uso en la invención pueden administrarse en combinación, por ejemplo, de forma simultánea, secuencial o separada, con uno o más compuestos terapéuticamente activos diferentes, que pueden ser, por ejemplo, otras terapias anti-MS o terapias anticáncer.

5 Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse, de modo conveniente, en formas de dosificación unitarias que contenga una cantidad predeterminada de un agente activo de la invención por dosis. Esta unidad puede contener, por ejemplo, pero sin limitación, de 750 mg/kg a 0,1 mg/kg dependiendo del trastorno que se va a tratar, la vía de administración, y la edad, peso y condición del sujeto.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables para su uso en la invención pueden adoptar una amplia variedad de formas dependiendo, por ejemplo, de la vía de administración.

10 Las composiciones para la administración oral pueden ser líquidas o sólidas. Las preparaciones líquidas orales pueden estar en la forma, por ejemplo, de suspensiones acuosas u oleosas, disoluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o se pueden presentar como un producto seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Las preparaciones líquidas orales pueden contener agentes suspensores, como se conoce en la técnica.

15 En el caso de preparaciones sólidas orales, tales como polvos, cápsulas y comprimidos, pueden incluirse vehículos, tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, agentes de granulación, lubricantes, ligantes, agentes disgregantes y similares. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan las formas de dosificación oral unitaria más ventajosas, en cuyo caso se emplean, en general, vehículos farmacéuticos sólidos. Además de las formas de dosificación habituales indicadas anteriormente, los agentes activos de la
20 invención también pueden administrarse a través de medios de liberación controlada y/o dispositivos de administración. Los comprimidos y cápsulas pueden comprender vehículos o excipientes convencionales, tales como agentes ligantes, por ejemplo, jarabe, goma arábiga, gelatina, sorbitol, goma de tragacanto o polivinilpirrolidona; cargas, por ejemplo, lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina; lubricantes para la formación de comprimidos, por ejemplo, estearato de magnesio, talco, polietilenglicol o sílice; disgregantes, por
25 ejemplo, almidón de patata; o agentes humectantes aceptables, tales como laurilsulfato de sodio. Los comprimidos pueden ser revestidos mediante técnicas acuosas o no acuosas convencionales, según métodos muy conocidos en la práctica farmacéutica normal.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral pueden presentarse como unidades discretas, tales como cápsulas, sellos o comprimidos, que contengan cada una cantidad predeterminada del agente
30 activo, como un polvo o gránulos, o como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso, un líquido no acuoso, una emulsión de aceite en agua, o una emulsión de agua en aceite. Estas composiciones pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos de la farmacia, pero todos los métodos incluyen la etapa de poner en contacto el agente activo con el vehículo, que constituye uno o más ingredientes necesarios. En general, las composiciones se preparan mezclando de forma uniforme e íntima el agente activo con vehículos líquidos, con
35 vehículos sólidos finamente divididos o con ambos, y después, si resulta necesario, dar forma al producto para lograr la presentación deseada. Por ejemplo, se puede preparar un comprimido por compresión o moldeado, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración parenteral pueden prepararse como disoluciones o suspensiones de los agentes activos de la invención en agua, de forma adecuada mezclada con un
40 tensioactivo, tal como hidroxipropilcelulosa. También se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos, y mezclas de los mismos en aceites. Bajo las condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos.

Las formas farmacéuticas adecuadas para el uso inyectable incluyen disoluciones estériles acuosas y no acuosas para inyección, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la
45 composición sea isotónica con la sangre del receptor destinado, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Se pueden preparar disoluciones, dispersiones y suspensiones extemporáneas para inyección a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse con dispositivos médicos conocidos en la técnica. Por ejemplo, en una realización preferida, una composición farmacéutica puede administrarse con un dispositivo de
50 inyección hipodérmica sin agujas, tales como los dispositivos descritos en los documentos US 5.399.163; 5.383.851; 5.312.335; 5.064.413; 4.941.880; 4.790.824; o 4.596.556. Los ejemplos de implantes y módulos muy conocidos útiles en la presente invención incluyen: el documento US 4.487.603, que describe una bomba de microinfusión implantable para dispensar una medicación a una velocidad controlada; el documento US 4.486.194, que describe un dispositivo terapéutico para administrar medicamentos a través de la piel; el documento US 4.447.233, que describe una bomba de infusión de medicación para administrar medicación a una velocidad de infusión precisa; el
55 documento US 4.447.224, que describe un aparato de infusión implantable de flujo variable para una administración continua del fármaco; el documento US 4.439.196, que describe un sistema de administración osmótico de un fármaco que tiene compartimentos de múltiples cámaras; y el documento US 4.475.196, que describe un sistema de

administración osmótico de un fármaco. Los expertos en la técnica conocen muchos otros de estos implantes, sistemas de administración y módulos.

5 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica se pueden formular como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, disoluciones, pastas, geles, vendas impregnadas, pulverizadores, aerosoles o aceites, dispositivos transdérmicos, polvos para empolverar y similares. Estas composiciones pueden prepararse mediante métodos convencionales que contengan el agente activo. Por tanto, también pueden comprender vehículos y aditivos convencionales compatibles, tales como conservantes, disolventes para ayudar a la penetración del fármaco, emolientes en cremas o ungüentos, y etanol o alcohol oleílico para lociones. Tales vehículos pueden estar presentes de aproximadamente 1% a aproximadamente 98% de la composición. De forma más habitual, 10 formarán hasta aproximadamente 80% de la composición. Sólo como ilustración, una crema o ungüento se prepara mezclando cantidades suficientes de un material hidrófilo y agua, conteniendo entre aproximadamente 5-10% en peso del compuesto, en cantidades suficientes para producir una crema o ungüento que tenga la consistencia deseada.

15 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica se pueden presentar como parches discretos destinados a permanecer en íntimo contacto con la epidermis del receptor durante un periodo de tiempo prolongado. Por ejemplo, el agente activo puede administrarse desde el parche mediante iontoforesis.

20 Para aplicaciones a tejidos externos, por ejemplo, la boca y la piel, las composiciones se aplican preferiblemente como una crema o ungüento tópico. Cuando se formula en un ungüento, el agente activo puede emplearse con una base de ungüento parafínica o miscible en agua. Como alternativa, el agente activo puede formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica en la boca incluyen píldoras para chupar, pastillas y enjuagues bucales.

25 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica al ojo incluyen colirios, en los que el agente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, en especial un disolvente acuoso. También incluyen cremas o ungüentos tópicos como anteriormente.

30 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración rectal en las que el vehículo es un sólido se presentan, lo más preferiblemente, como supositorios de dosis unitaria. Los vehículos adecuados incluyen manteca de cacao u otro glicérido o materiales usados habitualmente en la técnica, y los supositorios se pueden formar de manera conveniente mediante una mezcla de la combinación con el(los) vehículo(s) reblandecido(s) o fundido(s), seguido de un enfriamiento y conformación en moldes. También se pueden administrar como enemas.

35 La dosificación de un inhibidor de la actividad IL-17 que se va a administrar variará según el inhibidor concreto, el tipo de MS, el sujeto, y la naturaleza y gravedad de la enfermedad y la condición física del sujeto, y la vía de administración seleccionada; un experto en la técnica puede determinar con facilidad la dosificación apropiada. Para el tratamiento y/o la profilaxis de la MS en seres humanos y animales, pueden administrarse a los pacientes (por ejemplo, sujetos humanos) composiciones farmacéuticas que comprendan anticuerpos a unas dosificaciones terapéutica o profilácticamente aceptables (por ejemplo, unas dosificaciones que den como resultado la inhibición de la MS y/o el alivio de los síntomas de la MS) utilizando cualquier vía de administración apropiada, tal como una inyección y otras vías de administración conocidas en la técnica para los productos clínicos, tales como productos clínicos basados en anticuerpos.

40 Las composiciones pueden contener del 0,1% en peso, preferiblemente del 10-60% o más en peso, del inhibidor de la invención, dependiendo del método de administración.

45 Un experto en la técnica reconocerá que la cantidad óptima y la distribución de las dosificaciones individuales de un inhibidor de la invención serán determinadas por la naturaleza y grado del trastorno que se va a tratar, la forma, vía y sitio de la administración, y la edad y condición del sujeto particular que se está tratando y que, último término, será un médico quien determine las dosificaciones apropiadas que deben utilizarse. Esta dosificación puede repetirse tan a menudo como se considere apropiado. Si se producen efectos secundarios, la cantidad y/o frecuencia de la dosificación puede alterarse o reducirse, según la práctica clínica normal.

La invención se describirá a continuación haciendo referencia a los siguientes ejemplos, que son meramente ilustrativos y no deberían considerarse de ninguna manera que limitan el alcance de la presente invención.

50 Figuras

Figura 1. Efecto de Ab#13 mIgG1 sobre la enfermedad clínica cuando se dosifica desde el día -1 a lo largo de la fase aguda (flechas negras, días -1, 6, 13, 20). Media de la puntuación clínica (+/- de) representada frente al día de la inducción de la enfermedad (a) y la media del cambio en peso desde el día 0 (b).

55 **Figura 2.** Análisis de la fase aguda de la enfermedad después de la dosificación de Ab#13 mIgG1 a lo largo de la fase aguda.

Figura 3. Análisis de la fase de recaída de la enfermedad después de la dosificación de Ab#13 mlgG1 a lo largo de la fase aguda.

Figura 4. Efecto de Ab#13 mlgG1 sobre la enfermedad clínica cuando se dosifica a lo largo de la fase de recaída (flechas negras, días 28, 35, 42 y 49). Media de la puntuación clínica (+/- de) representada frente al día de la inducción de la enfermedad (a) y la media del cambio en peso desde el día 0 (b).

Figura 5. Análisis de la fase aguda de la enfermedad después de la dosificación de Ab#13 mlgG1 a lo largo de la fase aguda.

Figura 6. Análisis de la fase de recaída de la enfermedad después de la dosificación de Ab#13 mlgG1 a lo largo de la fase de recaída.

Figura 7. Efecto de Ab#13 Fab-di-PEG y Ab#13 mlgG1 sobre la enfermedad clínica cuando se dosifican a lo largo de la fase de recaída (las flechas negras representan los días de dosificación). Media de la puntuación clínica (+/- de) representada frente al día de la inducción de la enfermedad (a) y la media del cambio en peso desde el día 0 (b).

Figura 8. Análisis de la fase aguda antes de la dosificación con Ab#13 Fab-di-PEG y Ab#13 mlgG1.

Figura 9. Análisis de la fase de recaída después de la dosificación con Ab#13 Fab-di-PEG y Ab#13 mlgG1 durante la remisión.

Figura 10. Efecto de Ab#13 mlgG1 sobre la enfermedad clínica cuando se dosifica desde el día -1 (las flechas negras representan los días de dosificación) de manera profiláctica (a) y terapéutica (b).

Figura 11. Análisis del régimen de dosificación profiláctico.

Figura 12. Análisis del régimen de dosificación terapéutico.

Figura 13. Regiones constantes humanas y murinas.

Ejemplos

Ejemplo 1. Aislamiento de un anticuerpo anti-IL-17

Se inmunizaron conejos tres veces con IL-17 humana y después dos veces con IL-17 de ratón. Utilizando un ensayo en placa hemolítico con eritrocitos de oveja biotinilados revestidos con IL-17 murina mediante estreptavidina, se aislaron 9 genes de anticuerpos utilizando los métodos descritos en Babcook et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci, 93, 7843-7848, y en el documento WO92/02551. Los genes de anticuerpos se expresaron en células CHO y los anticuerpos recombinantes se seleccionaron por su capacidad para neutralizar la IL-17 murina en un bioensayo utilizando células 3T3-NIH de ratón (Yao et al., 1995, Immunity, 3:811-821). Todos los anticuerpos en el panel neutralizaron la IL-17 murina en este ensayo, y se seleccionó un anticuerpo, m170013 (Ab#13) para el ensayo *in vivo*. Para ensayar la eficacia del anticuerpo en EAE, se produjo una IgG quimérica (Ab#13 mlgG1) utilizando la región variable de conejo del anticuerpo m170013 y regiones constantes de ratón.

Ejemplo 2. Efecto de Ab#13 mlgG1 sobre los síntomas de la EAE

Se utilizó un modelo de MS, la encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE), esencialmente como se describe en Baker et al., 1990, Journal of Neuroimmunology, 28:261-270. Ratones hembra ABH de 8-10 semanas de edad (Harlan) se inmunizaron con un homogeneizado de médula espinal (SCH, 3,33 mg/ml) de ratón en adyuvante de Freund completo mediante una inmunización subcutánea en cada uno de los flancos (150 μ l/sitio) en los días 0 y 7.

i) Dosificación a lo largo de la fase aguda

Dos grupos fueron dosificados con anticuerpo a 10 mg/kg, por vía subcutánea en los días -1,6, , 13 y 20. Un grupo (n = 14) se dosificó con Ab#13 mlgG1, y el otro (n = 13) con 101,4 (control de isotipo).

ii) Dosificación a lo largo de la fase de recaída

Se hizo un seguimiento de un total de 30 ratones a lo largo de la fase aguda de la enfermedad, y en el día 27 se realizaron análisis de la fase aguda de la enfermedad para seleccionar dos grupos con unos perfiles de enfermedad similares en la fase aguda (día de aparición, puntuación del pico de la enfermedad, puntuación clínica acumulada y pérdida de peso). Se seleccionaron dos grupos de 12 ratones para la dosificación con anticuerpo a 10 mg/kg, por vía subcutánea en los días 28, 35, 42 y 49. Un grupo se dosificó con Ab#13 mlgG1, y el otro con 101,4 (control de isotipo).

Los pesos y las puntuaciones clínicas fueron registrados a diario por un asesor ciego al tratamiento y se recogió el EDTA-plasma terminal.

Escala de la puntuación clínica

0	Normal
0,25	Arrastre de la cola
0,5	Parálisis parcial de la cola
1	Parálisis completa de la cola
2	Parálisis incompleta de las patas traseras
3	Parálisis completa de las patas traseras/incontinencia
4	Parálisis de las patas delanteras/ pérdida del reflejo de enderezamiento

Datos estadísticos

5 Se realizaron comparaciones apareadas de las puntuaciones clínicas y del día de aparición utilizando el ensayo de la U de Mann-Whitney U, se realizó un análisis de la incidencia con un ensayo exacto de Fisher, y se realizó un análisis de la pérdida máxima de peso utilizando el ensayo de la T de Student.

Resultados

10 i) Dosificación durante la fase aguda: Se observó un retraso significativo en la aparición de la fase aguda y una menor gravedad e incidencia de la primera recaída (figuras 1, 2 y 3). La figura 2 muestra que el Ab#13 mlgG1 dosificado a lo largo de la fase aguda no produjo ningún efecto sobre la incidencia de la enfermedad en la fase aguda (Ab#13 mlgG1, 13/14 con enfermedad frente a 13/13 para el control de isotipo, 101,4). El único efecto estadísticamente significativo fue un retraso en la aparición de la fase aguda de la enfermedad (figura 2a, $p = 0,0039$, ensayo de la U de Mann-Whitney). No se observaron efectos sobre la pérdida de peso (b), puntuación clínica máxima (c) o puntuación clínica acumulada (d) en la fase aguda. La figura 3 muestra que el Ab#13 mlgG1 dosificado a lo largo de la fase aguda provocó una disminución significativa en la incidencia de la fase de recaída de la enfermedad (Ab#13 mlgG1, 6/14 con enfermedad frente a 11/11 para el control de isotipo, 101,4, $p = 0,0029$, ensayo exacto de Fisher). No se produjo un retraso estadísticamente significativo en la aparición de la fase de recaída de la enfermedad en los animales que entraron en recaída (a). Se observó una significativa reducción en la pérdida de peso (b, $p = 0,0001$, ensayo de la T de Student), la puntuación clínica máxima (c, $p = 0,0028$, ensayo de la U de Mann-Whitney) y la puntuación clínica acumulada (d, $p = 0,0001$, ensayo de la U de Mann-Whitney) durante la fase de recaída.

25 ii) Dosificación a lo largo de la fase de recaída: Se observó una menor incidencia, un retraso en la aparición y una menor gravedad de la fase de recaída (véanse las figuras 4, 5 y 6). La figura 5 demuestra que los grupos de dosis seleccionados por tener un perfil de fase aguda similar no mostraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros analizados. La figura 6 muestra que el Ab#13 mlgG1 dosificado a lo largo de la fase de recaída provocó una disminución significativa en la incidencia de la fase de recaída de la enfermedad (Ab#13 mlgG1, 5/12 con enfermedad frente a 12/12 para el control de isotipo, 101,4, $p = 0,0046$, ensayo exacto de Fisher). También se produjo un retraso estadísticamente significativo en la aparición de la fase de recaída de la enfermedad en los animales que entraron en recaída (a, $p = 0,0061$). También se observó una significativa reducción en la pérdida de peso (b, $p = 0,0001$, ensayo de la T de Student), la puntuación clínica máxima (c, $p = 0,0011$, ensayo de la U de Mann-Whitney) y la puntuación clínica acumulada (d, $p = 0,0023$, ensayo de la U de Mann-Whitney) durante la fase de recaída.

Sumario

35 El anticuerpo Ab#13 mlgG1 se dosificó en experimentos separados a lo largo de la fase aguda de la enfermedad (dosificación profiláctica) y a lo largo de la fase de recaída (dosificación terapéutica). Los efectos fueron más pronunciados en la recaída, con una reducción significativa en la incidencia y gravedad de la fase de recaída para ambos regímenes de dosificación.

Ejemplo 3. Efecto de Ab#13 Fab-Di-PEG sobre los síntomas de la EAE

40 Un fragmento Fab, denominado Ab#13 Fab-Di-PEG, se produjo esencialmente como se describe en la solicitud de patente internacional PCT/GB2004/002810 (presentada el 1 de julio, 2004). El Fab consistía en las regiones variables de conejo del anticuerpo 13 del ejemplo 1 y las regiones constantes de IgG1 de ratón. Por contraste con

5 otros fragmentos Fab, la región constante de la cadena pesada de este Fab termina en la cisteína intercatenaria de C_H1. Se diseñaron cebadores de PCR basándose en la región C_H1 de IgG1 murina, y se utilizó una mutagénesis de PCR para insertar un codón de terminación inmediatamente después de la cisteína intercatenaria de C_H1. Las regiones constantes de ratón se muestran en la figura 13 y en SEQ ID NO:3 (cadena pesada) y 4 (cadena ligera). También se utilizó una mutagénesis de PCR para sustituir la cisteína en la posición 80 de la región variable de la cadena ligera de conejo por alanina.

CH1 murina (SEQ ID NO:3)

KTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVL
QSDLYTLSSSVTVPSSTWVPSSETVTCNVAHPASSTKVDDKKIVPRDC*

Kappa murina (SEQ ID NO:4)

10 DAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPYKDKINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQ
DSKDSTYSMSSTLTLLTKDEYERHNSYTCETHKTSTSPIVKSFNREGC*

Los fragmentos Fab se produjeron en *E. coli* cepa W3110 y se purificaron utilizando métodos convencionales (Humphreys et al., 2002, Protein Expression and Purification, 26, 309-320).

15 Se unió PEG 2 x 20 kDa al fragmento Fab uniendo un PEG de 20 kDa lineal a cada una de las cisteínas intercatenarias (subrayadas en las secuencias anteriores). Las reducciones y las PEGilaciones se realizaron en Tris.HCl 50 mM, EDTA 5 mM, pH 7,14 con Fab a 20,06 mg/ml. El Fab se redujo a temperatura ambiente (aproximadamente 24°C) durante 30 minutos utilizando tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) 10 mM (final). El Fab se desaló en una columna PD-10 (Pharmacia) y después se mezcló con un exceso molar en 4 veces de PEG-maleimida de 20 kDa lineal frente a Fab. El PEG de 20 kDa provenía de Nippon Oils and Fats (NOF). El Fab PEGilado se separó del Fab no PEGilado mediante HPLC de exclusión molecular en columnas analíticas Zorbax
20 GF-450 y GF-250 en serie. Éstas se ensayaron con un gradiente isocrático durante 30 min de fosfato 0,2 M, pH 7,0 + etanol al 10% a 1 ml/min, y el Fab se detectó utilizando absorbancia a 214 nm y 280 nm.

Se utilizó un modelo de MS, la encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE), esencialmente como se describe en Baker et al., 1990, Journal of Neuroimmunology, 28:261-270.

25 Ratones hembra ABH de 8-10 semanas de edad (Harlan) se inmunizaron con un homogeneizado de médula espinal (SCH, 3,33 mg/ml) de ratón en adyuvante de Freund completo en dos sitios, por vía subcutánea, en los flancos (150 µl/sitio) en los días 0 y 7.

Cuatro grupos fueron dosificados antes de la aparición de la primera recaída (durante la remisión). Los grupos fueron asignados como sigue:

- 30 Grupo 1 (n = 11) Ab#13 Fab-di-PEG anti-IL-17 de ratón (100 mg/kg, por vía subcutánea, semanal)
- Grupo 2 (n = 11) Ab#13 Fab-di-PEG anti-IL-17 de ratón (30 mg/kg, por vía subcutánea, semanal)
- Grupo 3 (n = 9) Ab#13 mlgG1 anti-IL-17 de ratón (10 mg/kg, por vía subcutánea)
- Grupo 4 (n = 9) control de PBS

Los pesos y las puntuaciones clínicas se registraron a diario y se recogió el EDTA-plasma terminal.

Escala de la puntuación clínica

0	Normal
0,25	Arrastre de la cola
0,5	Parálisis parcial de la cola
1	Parálisis completa de la cola
2	Parálisis incompleta de las patas traseras/pérdida del reflejo de enderezamiento
3	Parálisis completa de las patas traseras/incontinencia
4	Parálisis de las patas delanteras/moribundo

35

Datos estadísticos

Se realizaron comparaciones apareadas de las puntuaciones clínicas máximas y acumuladas y del día de la aparición utilizando el ensayo de la U de Mann-Whitney. La puntuación clínica acumulada se define como la suma de las puntuaciones clínicas a lo largo de la enfermedad para cada animal (área bajo la curva). Las comparaciones de la incidencia de la enfermedad se realizaron utilizando el ensayo exacto de Fisher. La pérdida máxima de peso se analizó utilizando ANOVA de una vía con un postensayo de Bonferroni.

Resultados

La figura 7a muestra el efecto de Ab#13 di Fab-PEG y Ab#13 mlgG1 anti-IL17 sobre la enfermedad clínica cuando se dosifican desde la remisión (las flechas negras representan los días de dosificación). Cuando se dosifican antes de la primera recaída, todas las dosis activas mostraban una reducción significativa en la puntuación clínica acumulada y máxima y en la incidencia.

La figura 8 muestra que durante la fase aguda, antes del tratamiento con anticuerpos, ninguno de los grupos asignados mostró diferencias significativas en la aparición de la enfermedad o la gravedad clínica antes de la dosificación de los anticuerpos.

La figura 9 muestra que los anticuerpos anti-IL-17 de ratón dosificados antes de la aparición de la recaída durante la remisión mostraron una reducción significativa en la puntuación clínica máxima (Ab#13 di Fab-PEG 100 mg/kg frente a PBS $p < 0,05$ e IL-17 Ab#13 mlgG1 frente a PBS $p < 0,001$),

También se produjo una reducción en la puntuación acumulada (Ab#13 di Fab-PEG (100 mg/kg y 30 mg/kg) y Ab#13 mlgG1 frente a PBS $p < 0,01$, $p < 0,05$ y $p < 0,001$, respectivamente). Además se produjo una reducción en la pérdida de peso máxima (Ab#13 di Fab-PEG 100 mg/kg y Ab#13 mlgG1 frente a PBS ambos $p < 0,05$).

La incidencia real de las recaídas se resume en la tabla 1, teniendo todos los grupos tratados activamente una incidencia significativamente inferior que el grupo de control de PBS.

Tabla 1.

	Ab#13 di Fab-PEG 100 mg/kg***	Ab#13 di Fab-PEG 30 mg/kg*	Ab#13 IgG1 10 mg/kg***	PBS
Animales que entraron en recaída	0	2	0	7
Animales que no entraron en recaída	11	9	11	2
Número total de animales	11	11	11	9
*** P=0,005 *p=0,0216 *** P=0,005				

Sumario

Se dosificaron anticuerpos anti-IL17 de ratón (Ab#13 di Fab-PEG y Ab#13 mlgG1) de una manera dependiente de la dosis durante la fase de remisión antes de la aparición de la primera recaída. Los efectos fueron pronunciados, con una reducción significativa para ambos anticuerpos en la incidencia de la recaída y en la puntuación de enfermedad máxima y acumulada, en comparación con el grupo de control de PBS.

Ejemplo 4. Efecto de Ab#13 mlgG1 sobre los síntomas de la EAE crónica en ratones C57Bl/6

El modelo de EAE crónica empleado fue esencialmente el descrito en Copray et al., 2004, Journal of Neuroimmunology, 148:41-53.

Ratones hembra C57Bl/6 de 6-8 semanas de edad (Charles River) se inmunizaron con proteína de mielina de oligodendrocitos (MOG 35-55, 0,66 mg/ml) en adyuvante de Freund completo (0,4 mg/ml, Mycobacterium; M. tuberculosis: M. butyricum 4:1) en dos sitios, por vía subcutánea, en los flancos (150 µl/sitio) en los días 0 y 7. A los ratones también se les administró toxina de pertussis (1 µg/ml) en los días 0, 1, 7, 8; 200 µl, por vía intraperitoneal.

Dos grupos fueron dosificados de modo profiláctico (10 mg/kg; por vía subcutánea; -1comenzando en PSD -1 hasta el final del experimento). Un grupo (n = 15) se dosificó con Ab#13 mlgG1 (región V de conejo quimérica, región

constante murina de IgG-1, como se describió en el ejemplo 1), el otro (n = 15) con 101,4 (control de isotipo de IgG-1 murina, 101,4).

Dos grupos fueron dosificados de modo terapéutico (tras 50% de incidencia) con Ab#13 mIgG1 y anticuerpo control 101,4 (10 mg/kg; o vía subcutánea, comenzando en PSD 16 hasta el final del experimento)

- 5 Los pesos y las puntuaciones clínicas se registraron a diario y se recogió el EDTA-plasma terminal.

Escala de la puntuación clínica

0	Normal
0,25	Arrastre de la cola
0,5	Parálisis parcial de la cola
1	Parálisis completa de la cola
2	Parálisis incompleta de las patas traseras/pérdida del reflejo de enderezamiento
3	Parálisis completa de las patas traseras/incontinencia
4	Parálisis de las patas delanteras/moribundo

Datos estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron como se describió en el ejemplo 3.

10 **Resultados**

La figura 10 muestra que la dosificación profiláctica (a) de Ab#13 mIgG1 produjo un retraso significativo en la aparición de la enfermedad, la puntuación clínica acumulada y máxima. La dosificación terapéutica (b) redujo significativamente la puntuación clínica acumulada. Otros análisis demostraron que Ab#13 mIgG1 dosificado de modo profiláctico producía unos efectos significativos en la reducción de la puntuación acumulada (p = 0,0006), un retraso en la aparición (p = 0,0184) y la puntuación clínica máxima (p = 0,0032, todos ensayos de la U de Mann-Whitney) (figura 11). El Ab#13 mIgG1 dosificado de modo terapéutico también mostró una reducción significativa en la puntuación acumulada (b, p = 0,0229, ensayo de la U de Mann-Whitney; figura 12).

- 15

Sumario

El anticuerpo anti-IL17 de ratón Ab#13 mIgG1 se dosificó en experimentos diferentes de modo profiláctico y terapéutico. Los efectos fueron más pronunciados de modo profiláctico, con una reducción significativa en la puntuación de enfermedad máxima y acumulada, y además la incidencia de la enfermedad fue significativamente retrasada. El tratamiento terapéutico mostró una reducción en la puntuación de enfermedad acumulada.

- 20

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> UCB Pharma S.A. Christie, Mark I Mead, Richard J Robinson, Martyn K Rapecki, Stephen E

<120> Método para el tratamiento de la esclerosis múltiple

5

<130> PA553

<150> GB0327181.4 y GB0417115.3

<151> 21-11-2003

10

<160> 4

<170> PatentIn versión 3.2

15

<210> 1

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 1

```

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1          5          10          15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
          20          25          30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
          35          40          45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
          50          55          60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
          65          70          75          80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
          85          90          95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
          100

```

25

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 2

```

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

```

ES 2 554 645 T3

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 3
<211> 101
<212> PRT
<213> Mus musculus

5

<400> 3

Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala
1 5 10 15

Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe
20 25 30

Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly
35 40 45

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser
50 55 60

Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr
65 70 75 80

Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile
85 90 95

Val Pro Arg Asp Cys
100

10

<210> 4
<211> 105
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 4

Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu
1 5 10 15

Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
20 25 30

Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
35 40 45

Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
50 55 60

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

20

ES 2 554 645 T3

Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile
85 90 95

Val Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor de la actividad IL-17 para uso en un método de tratamiento y/o profilaxis de la esclerosis múltiple de recaída-remisión (MS), en el que el inhibidor es una proteína de fusión IL-17R:Fc, o es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo funcionalmente activo de éste que se une a IL-17 o IL-17R.
- 5 2. El inhibidor para el uso según la reivindicación 1, en donde el anticuerpo o fragmento de anticuerpo es monoclonal, policlonal, quimérico, humanizado o biespecífico.
3. El inhibidor para el uso según la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el fragmento de anticuerpo es un Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, o un fragmento de unión al epitopo de éste.
- 10 4. El inhibidor para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo está conjugado a polietileno glicol (PEG).

Figura 1

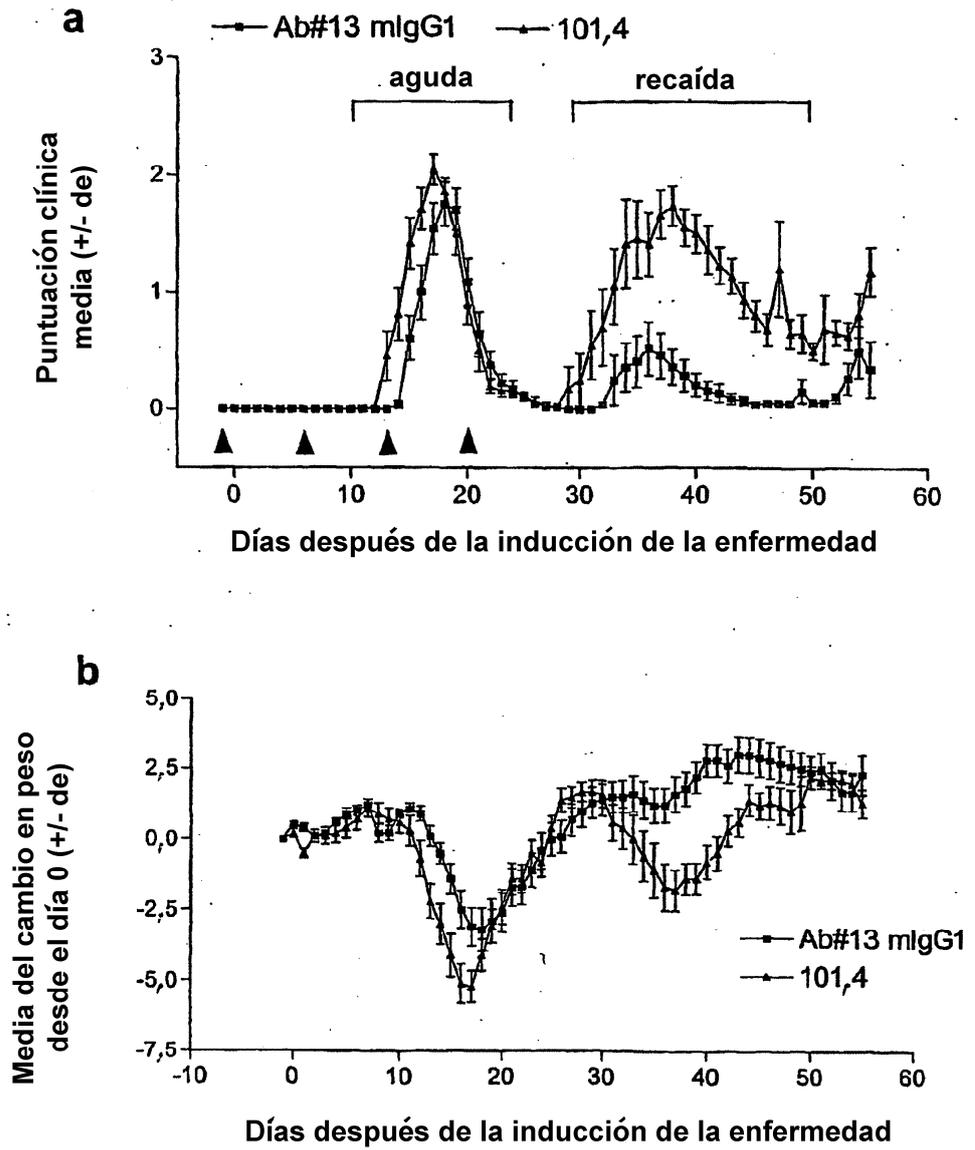


Figura 2

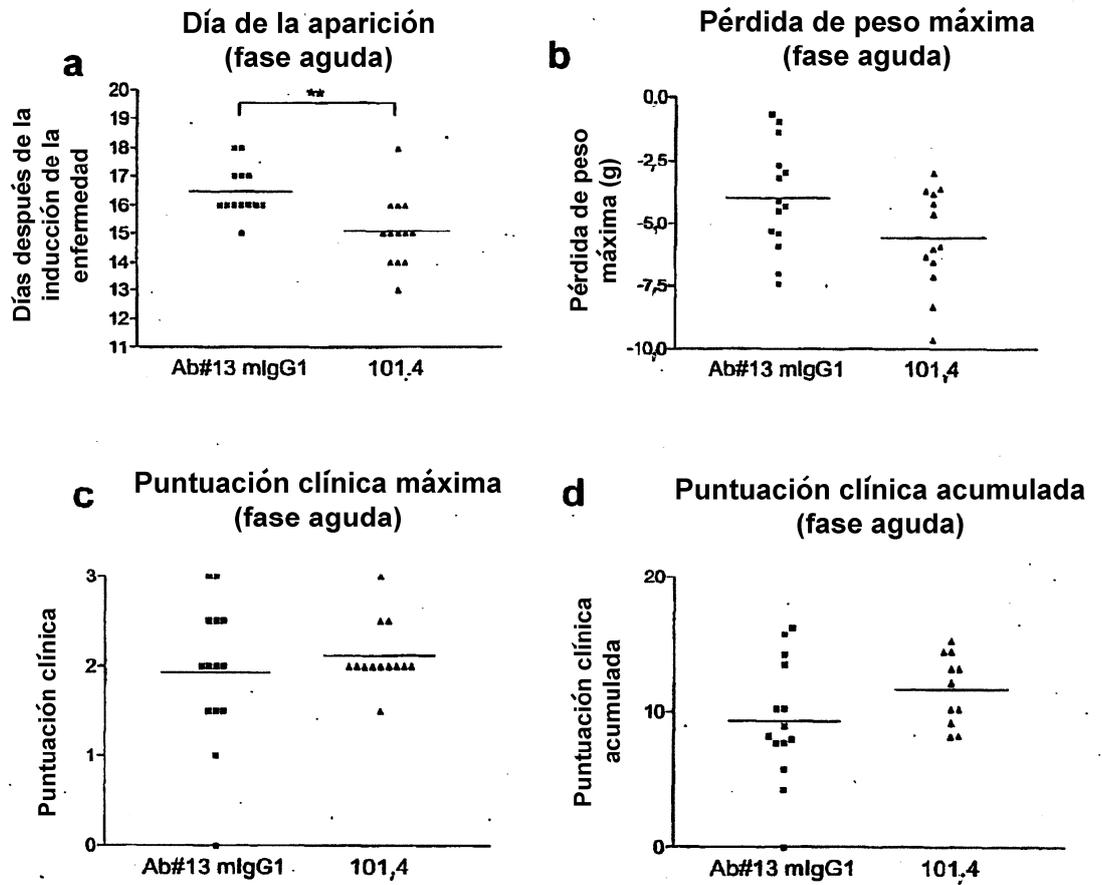


Figura 3

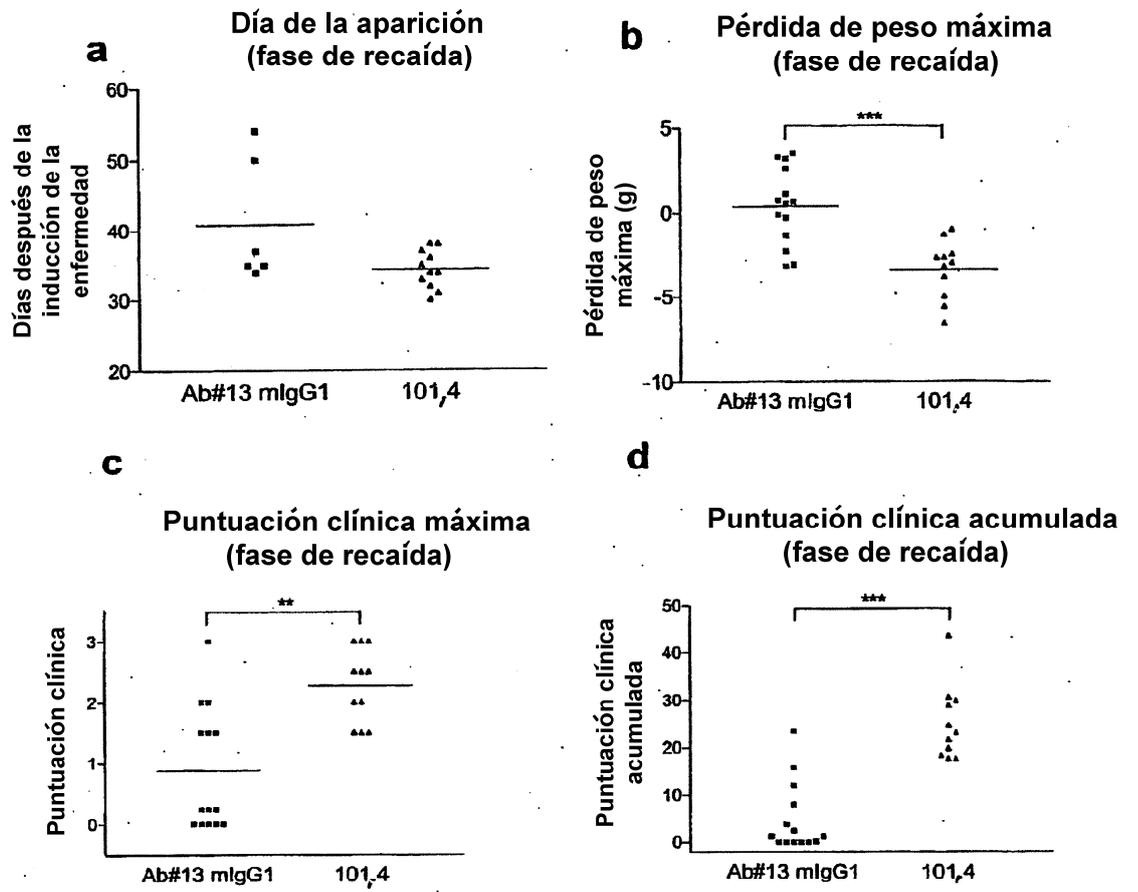


Figura 4

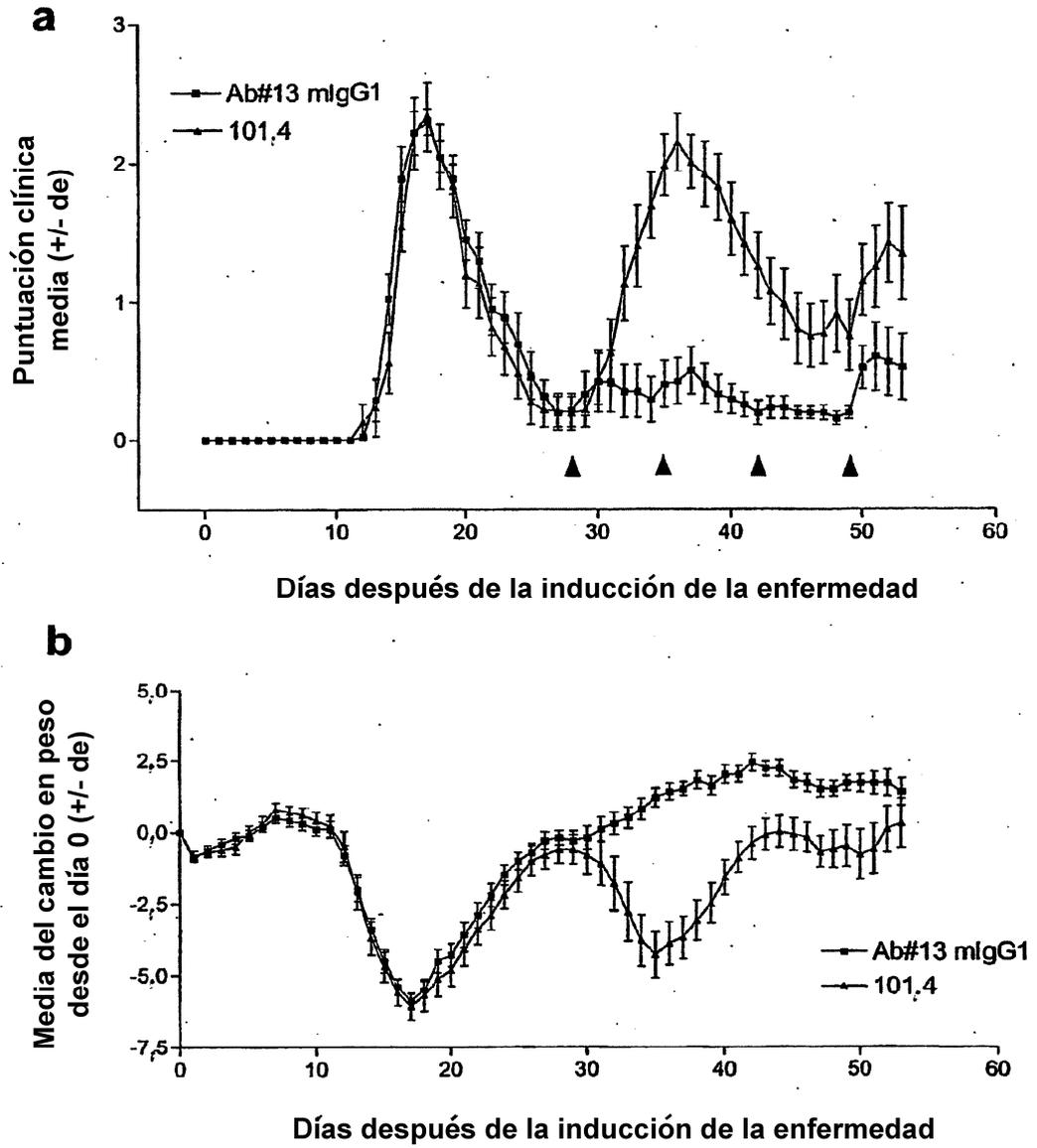


Figura 6

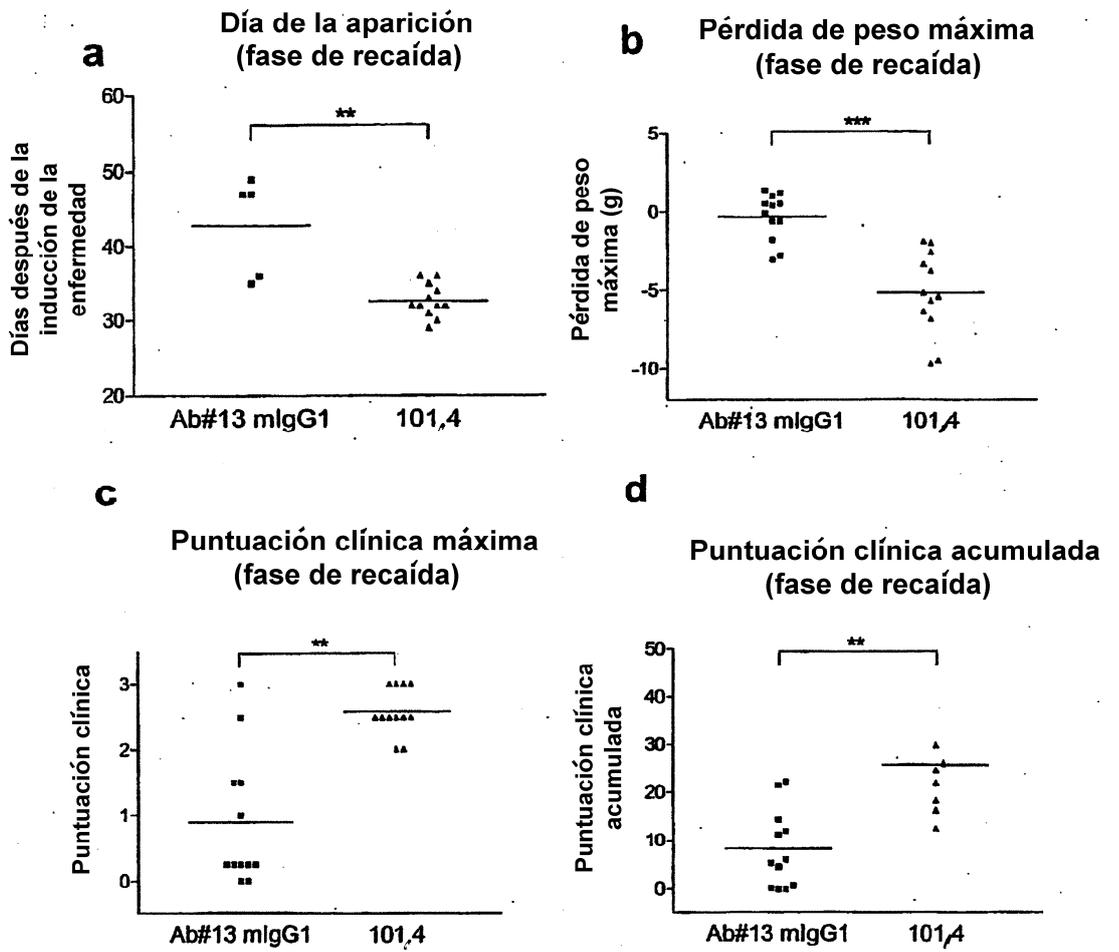


Figura 7

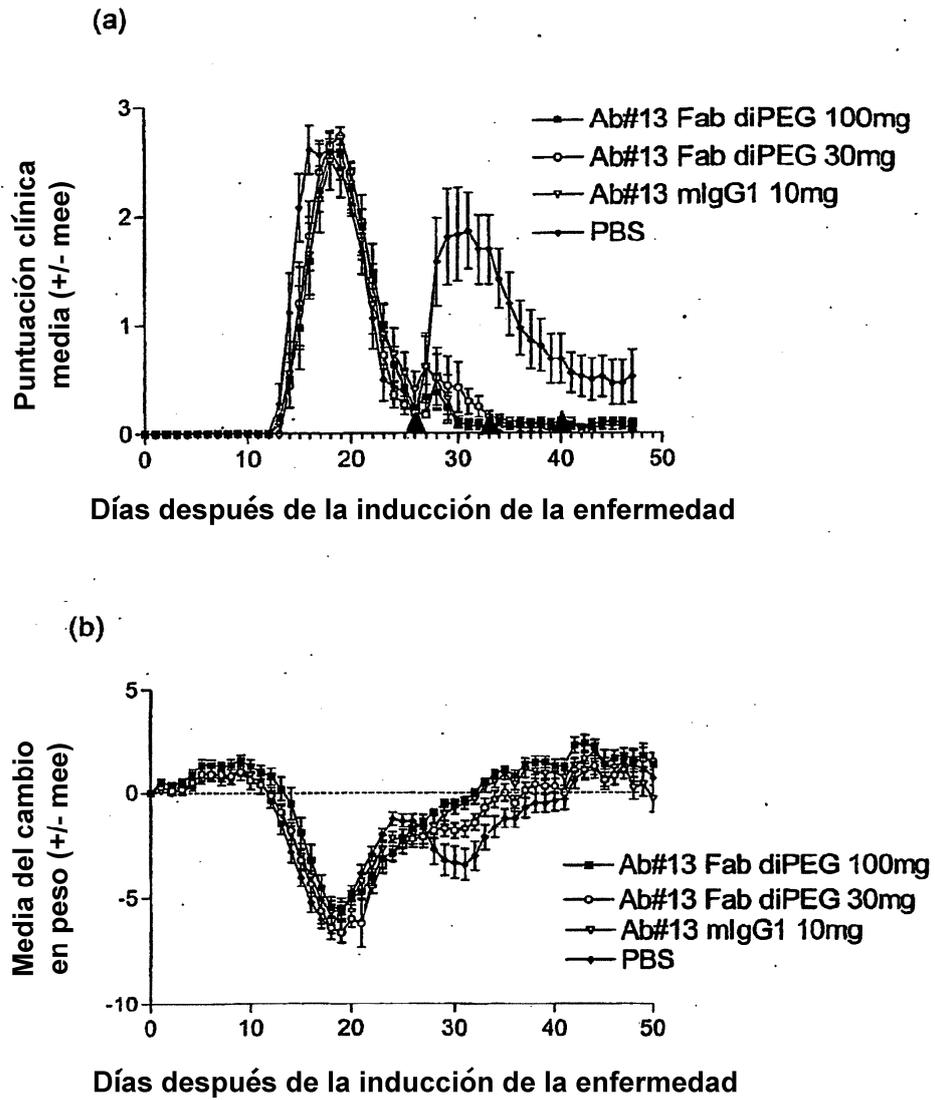


Figura 8

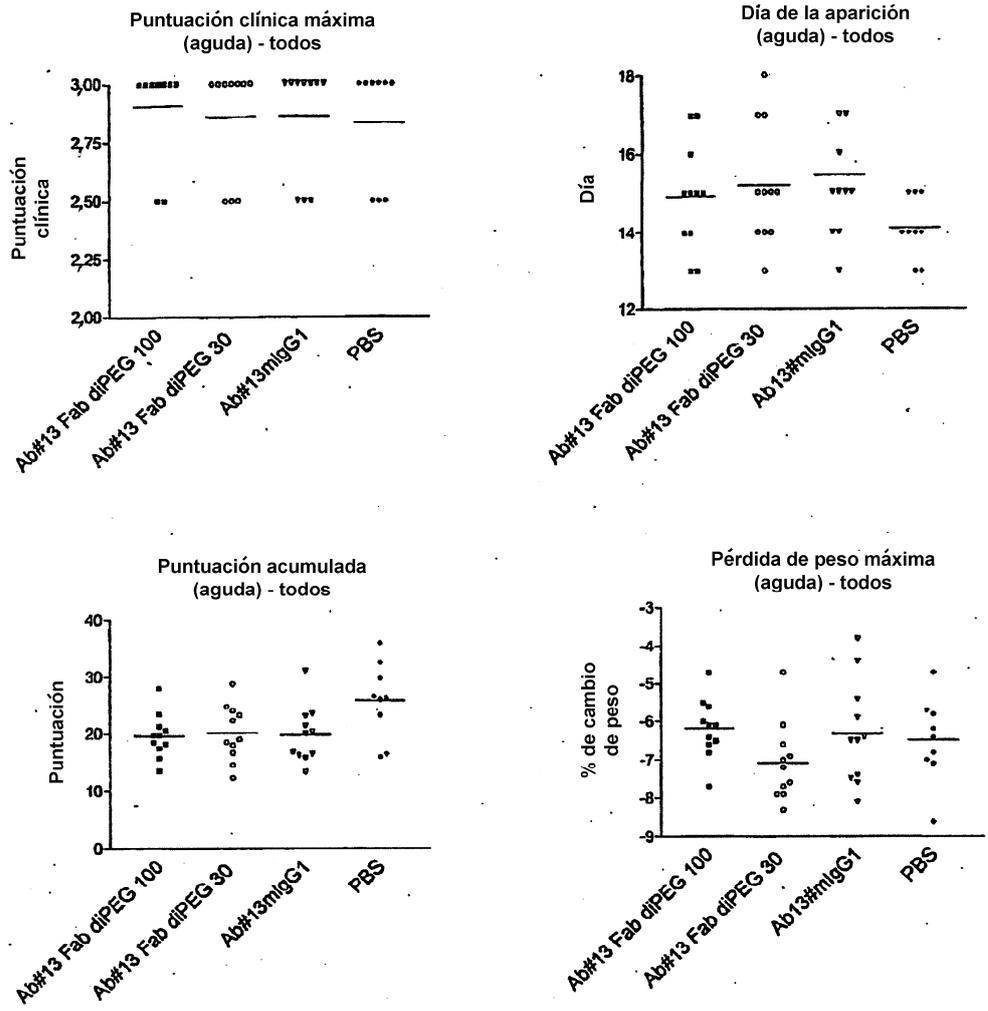


Figura 9

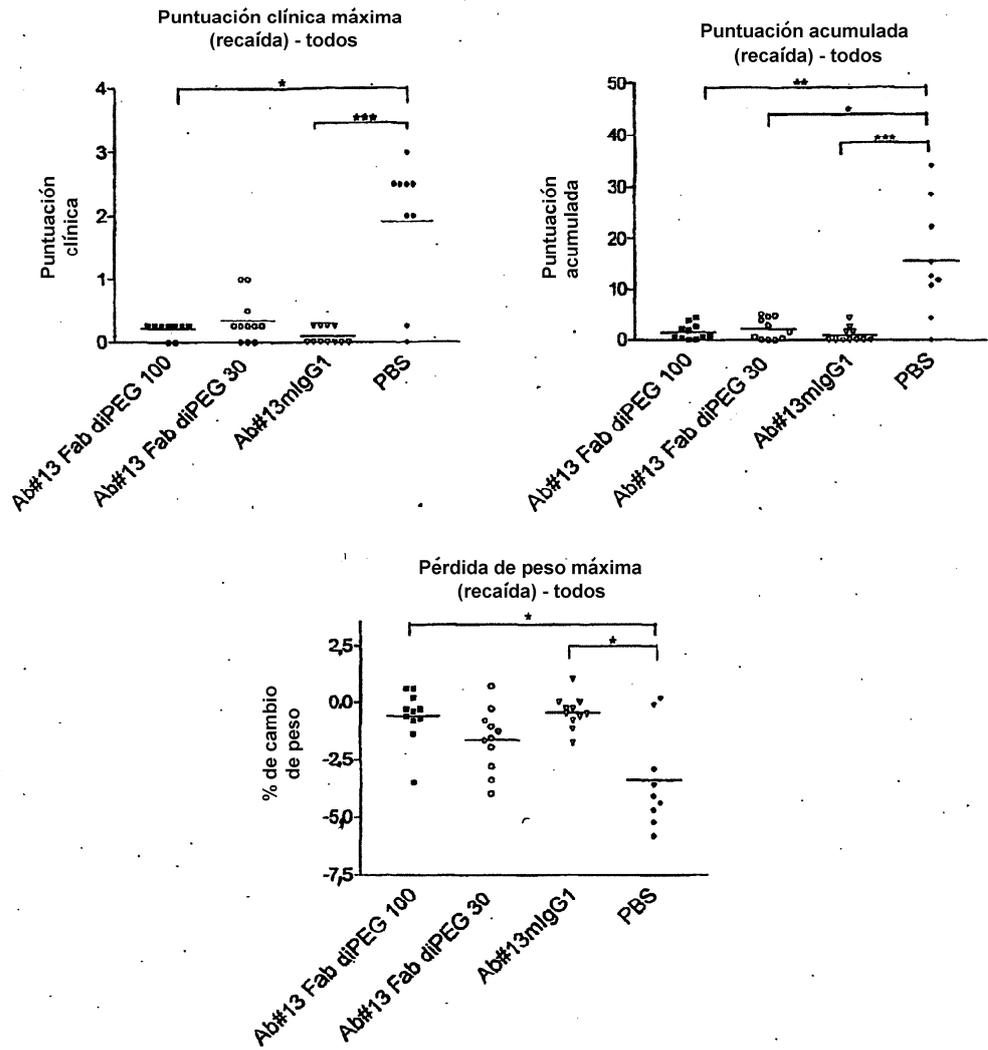


Figura 10

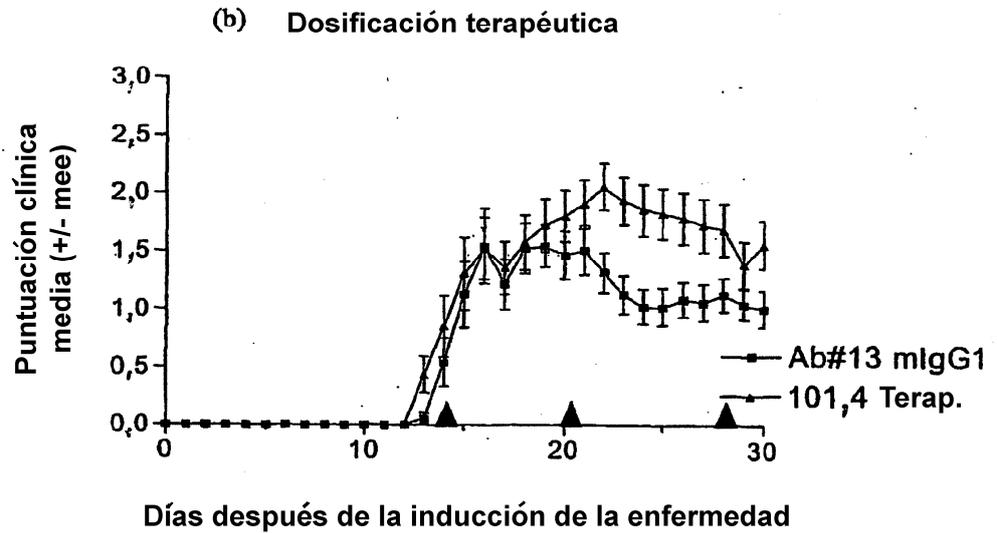
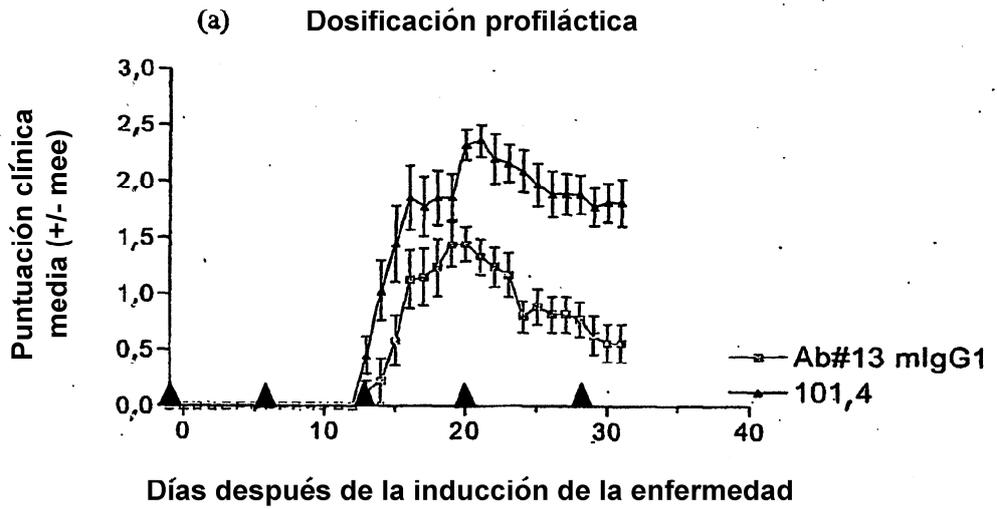


Figura 11

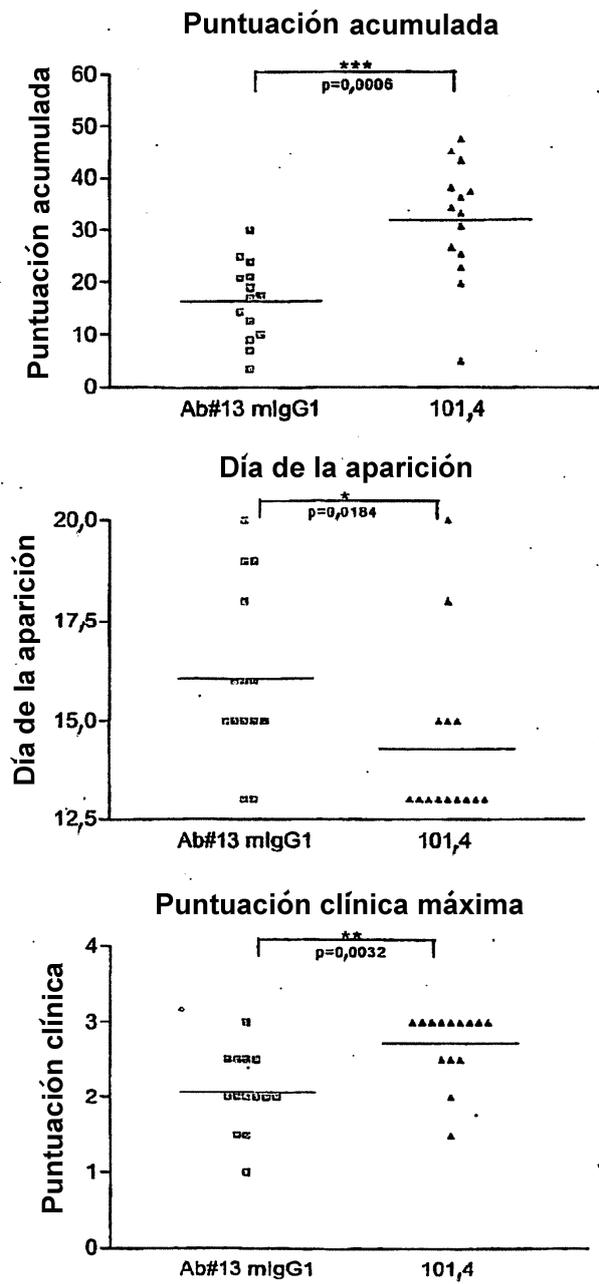


Figura 12

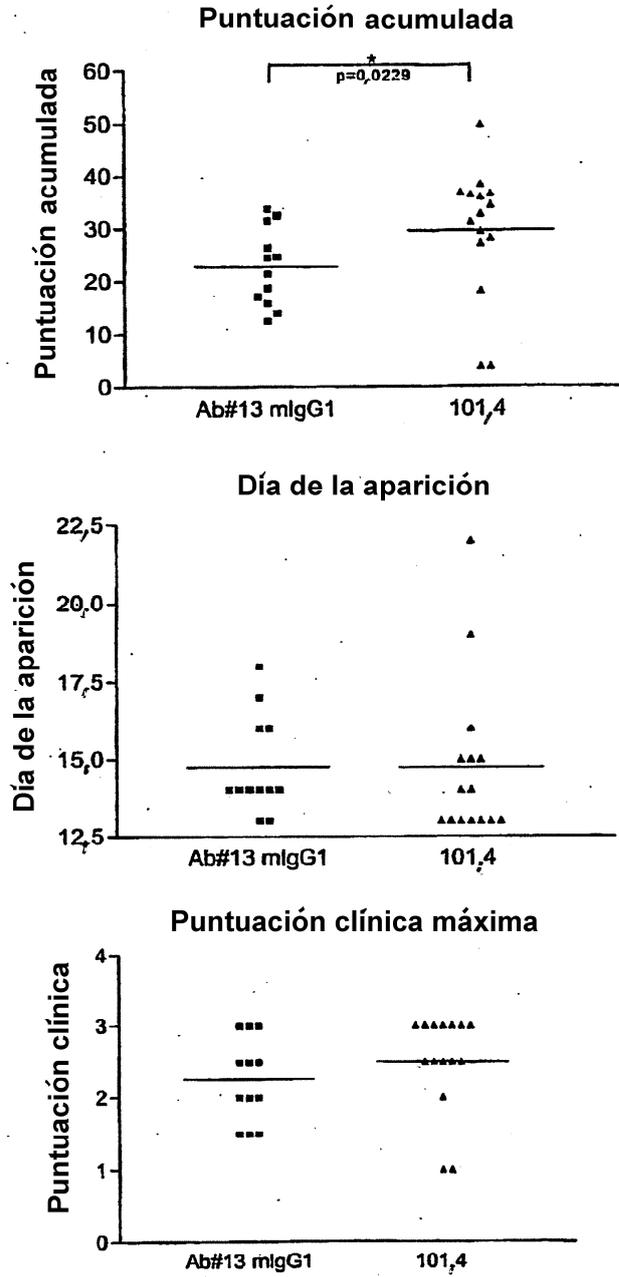


Figura 13

SEQ ID NO:1

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YLSSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

SEQ ID NO:2

KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:3

KTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT
LSSSVTVPPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDC

SEQ ID NO:4

DAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNRFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQSDKD
TYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRGEC