

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 584 907**

51 Int. Cl.:

C07K 16/18 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.03.2009 E 09716779 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.05.2016 EP 2265288**

54 Título: **Métodos para tratamiento del dolor inflamatorio**

30 Prioridad:

04.03.2008 US 33568

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

30.09.2016

73 Titular/es:

**LABRYS BIOLOGICS INC. (100.0%)
735 Galveston Drive
Redwood City, CA 94063, US**

72 Inventor/es:

**CORRADINI, LAURA;
MACHIN, IAN;
POULSEN, KRISTIAN, TODD;
SHELTON, DAVID, LOUIS y
ZELLER, JOERG**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 584 907 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

Métodos para tratamiento del dolor inflamatorio

Campo de la invención

5 La invención se refiere a un anticuerpo anti CGRP para su uso en la prevención y/o tratamiento del dolor y/o síntomas de dolor inflamatorio, y a un método para tratar y/o prevenir el dolor y/o síntomas de dolor inflamatorio usando un anticuerpo anti CGRP.

Antecedentes de la invención.

10 El proceso inflamatorio es una serie compleja de eventos bioquímicos y celulares, activados en respuesta a la lesión de tejidos o la presencia de sustancias extrañas, que da como resultado hinchazón y dolor (Levine y Taiwo, 1994, Textbook of Pain, 45 56). Dolor artrítico es el dolor inflamatorio más común. La enfermedad reumatoide es una de las afecciones inflamatorias crónicas más comunes en los países desarrollados y la artritis reumatoide es una causa
15 común de discapacidad. La etiología exacta de la artritis reumatoide es desconocida, pero las hipótesis actuales sugieren que factores tanto genéticos como microbiológicos pueden ser importantes (Grennan y Jayson, 1994, Textbook of Pain, 397 407). Ha sido estimado que casi 16 millones de estadounidenses tienen osteoartritis sintomática (OA) o enfermedad degenerativa de las articulaciones, la mayoría de los cuales tienen más de 60 años de edad, y se espera que aumente a 40 millones de años a medida que la edad de la población aumente, haciendo
20 que este sea un problema de salud pública de enorme magnitud (Houge y Mersfelder, 2002, Ann Pharmacother, 36, 679 686; McCarthy et al, 1994, Textbook of Pain, 387 395.). Más pacientes con osteoartritis buscan atención médica debido al dolor asociado. La artritis tiene un impacto significativo sobre la función psicosocial y física y se sabe que es la causa principal de discapacidad en la vida posterior. La espondilitis anquilosante también es una enfermedad reumática que provoca artritis en las articulaciones sacroilíacas y columna vertebral. Varía de episodios intermitentes de dolor de espalda que se producen a lo largo de la vida a una enfermedad crónica grave que ataca la columna
25 vertebral, articulaciones periféricas y otros órganos del cuerpo.

Otro tipo de dolor inflamatorio es el dolor visceral que incluye el dolor asociado con enfermedad inflamatoria intestinal (IBD). El dolor visceral es el dolor asociado con las vísceras, que abarcan los órganos de la cavidad
30 abdominal. Estos órganos incluyen órganos de sexo, bazo y parte del sistema digestivo. El dolor asociado con las vísceras puede dividirse en dolor visceral digestivo y dolor visceral no digestivo. (G1) trastornos gastrointestinales comúnmente encontrados que provocan dolor incluyen trastorno funcional del intestino (FBD) y enfermedad inflamatoria intestinal (IBD). Estos trastornos G1 incluyen una amplia gama de estados de enfermedad que actualmente sólo están moderadamente controlados, incluyendo, con respecto a FBD, reflujo gastro esofágico,
35 dispepsia, síndrome del intestino irritable (IBS) y síndrome de dolor abdominal funcional (FAPS), y, con respecto a IBD, enfermedad de Crohn, ileítis y colitis ulcerosa, todos los cuales producen regularmente dolor visceral. Otros tipos de dolor visceral incluyen el dolor asociado con la dismenorrea, cistitis y pancreatitis y dolor pélvico.

Hay una necesidad médica crítica para identificar compuestos nuevos farmacéuticamente activos que interfieren con
40 los pasos principales del proceso de dolor inflamatorio y en particular para el tratamiento y/o prevención del dolor y/o los síntomas de dolor de artritis.

Sorprendentemente, se ha encontrado que la administración de un anticuerpo anti CGRP es eficaz en la prevención
45 y/o el tratamiento de dolor inflamatorio, dolor de la artritis y en particular dolor de la osteoartritis.

CGRP (péptido relacionado con el gen de la calcitonina) es un neuropéptido de 37 aminoácidos que actúa como un neurotransmisor en el sistema nervioso central. Se une con alta afinidad al receptor de CGRP, receptores de calcitonina como receptor (CRLR), la activación de ciclase de adenilato y producción de quinasa de proteína A.

50 Antagonistas de CGRP de molécula pequeña selectiva de penetración central y administración por vía espinal se han demostrado ser útiles en el tratamiento de condiciones de dolor neuropático y nociceptivo (Adwanikar et al, Dolor 2007) lo que sugiere que la eliminación de CGRP endógeno en la médula espinal tiene un efecto antinociceptivo. Además la administración intratecal de antisuero contra CGRP se ha demostrado que reduce el comportamiento nociceptivo en modelos de roedores de artritis (Kuraishi, Y., et al., Neurosci. Lett (1998) 92, 325 -
55 329).

Sorprendentemente, se ha encontrado que la administración de un anticuerpo anti CGRP es eficaz, con un sitio periférico de acción, en la prevención y/o tratamiento del dolor inflamatorio y, en dolor osteoartritis particular cuando se administra periféricamente. Esta vía de administración periférica proporciona una clara ventaja sobre el requisito de administrar anticuerpos intratecal o medularmente, un procedimiento de más alto riesgo e inconveniente.
60

Breve descripción de la invención

La presente invención proporciona un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso como un medicamento para la
65 prevención o el tratamiento del dolor artrítico, en el que el anticuerpo antagonista anti CGRP no se administra por vía intratecal.

En una realización, el anticuerpo antagonista anti CGRP actúa periféricamente en administración.

Descripción de las figuras

- 5 **Figura 1:** El modelo de dolor de osteoartritis. Anticuerpo G2 se administró a 1 y 10 mg/kg, por vía intravenosa (1 ml/kg, IV) y, un anticuerpo nulo (no se une a CGRP) se administró a 10 mg/kg, IV como un control negativo. Ambos anticuerpos se disolvieron en una solución de vehículo que contiene PBS + 0,01% de Tween 20. Celecoxib se utilizó como control positivo en el estudio. Se suspendió en 0,5% de metilcelulosa y 0,025% de Tween 20 y se administró por sonda oral (1 ml/kg) a 30 mg/kg, dos veces al día durante todo el período de estudio. Se evaluaron las respuestas al dolor en días 2, 3, 7 y 10 después de la iniciación del estudio de farmacología (día 0) y se evaluaron de una manera totalmente ciega. Los datos re los medios \pm SEM de 6 ratas por grupo. * $p < 0,05$ y $p < 0,01$ vs valor de referencia (prueba de Dunnett en GraphPad Prism). En la figura, de izquierda a derecha, la barra 1=línea de base, barras 2-5=anticuerpos nulo, bares 6-9=1 mg/ml G2, barras 10-13=10 mg/ml G2, barras 14-17=Celecoxib 30 mg/ml .
- 10
- 15 **Figura 2:** Los datos de unión de ensayo demuestran que el anticuerpo IG inhibe la unión de α -CGRP al receptor CGRPI.
- 20 **Figura 3a:** Los niveles séricos de la concentración contra el CGRP (ug/ml) frente al tiempo después de la administración IV de 10 mg/kg, medida por el anti-IgG ELISA.
- Figura 3b:** El nivel en suero de la concentración de CGRP contra (ug/ml) frente al tiempo después de la administración IV de 10, 30, 100 mg/kg, medida por el anti-IgG ELISA.
- 25 **Figura 4:** Exploración de alanina usando un fragmento de CGRP C-terminal (CGRP 25-37). El cambio en la afinidad se expresa en la pérdida de veces de afinidad y que muestra que el anticuerpo anti CGRP G1 se une a la región terminal C de α -CGRP humano.
- 30 **Figura 5:** Competencia de solución por Biacore: CGRP, fragmentos de CGRP o péptidos relacionados en secuencia para CGRP se utiliza para determinar la especificidad de G1.
- Figura 6:** Secuencias de CGRP de humano, mono cynomolgus, rata, ratón, perro y conejo. Residuos no conservados entre las especies están subrayados, el epítipo de G1 está en negrita.
- 35 **Figura 7:** Los datos que muestra G1 inhibe la llamarada neurogénica en la piel a partir de 90 min post tratamiento. G1 se administró por administración intravenosa (1 ml/kg). Los datos son de 6-8 o 13 ratas por grupo. * $p = 0,05$, $p = 0,01$ ** vs vehículo (salino de tampón de fosfato) grupo tratado en cada punto temporal (AVOVA).
- 40 **Tabla 1:** Kd y IC50 de anticuerpos anti CGRP midieron a 25°C frente a un α -CGRP humano [muMab7E9 = precursor de murino de G1. Su KD para rata β -CGRP=1 nM. RN4901=herramienta de murino, reconociendo el mismo epítipo como G1 pero mostró las mismas afinidades y selectividad en ratas (β -CGRP KD=17 nM); G1=anticuerpo humanizado de muMab7E9 (KD para rat β CGRP=0,1 nM).]
- 45 **Tabla 2:** Afinidades de unión G1 según lo determinado por Biacore

Descripción de la invención

Técnicas generales

- 50 La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología molecular (incluyendo técnicas recombinantes), microbiología, biología celular, bioquímica e inmunología, que están dentro de la experiencia de la técnica. Tales técnicas se explican completamente en la bibliografía, tal como, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, segunda edición (Sambrook et al, 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed, 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather y P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths y D. G. Newell, eds., 1993 1998). J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir y C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller y M. P. Cal, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel et al, eds., 1987.); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al, eds., 1994.); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al, eds., 1991.); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C. A. Janeway y P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988 1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd y C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow y D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti y J.D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); y Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita et al., eds., J. B. Lippincott Company, 1993).
- 65

Definiciones

5 Un "anticuerpo" es una molécula de inmunoglobulina capaz de unión específica a una diana, tal como un
 10 carbohidrato, polinucleótido, lípido, polipéptido, etc., a través de al menos un sitio de reconocimiento del antígeno,
 localizado en la región variable de la molécula de inmunoglobulina. Tal como se utiliza aquí, el término abarca
 anticuerpos no sólo policlonales intactos o monoclonales, sino también fragmentos de los mismos (tales como Fab,
 Fab', F(ab')₂, Fv, dAb), anticuerpos de cadena sencilla (ScFv), los mutantes de los mismos, anticuerpos quiméricos,
 15 diacuerpos, proteínas de fusión que comprenden una porción de anticuerpo, y cualquier otra configuración
 modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprende un sitio de reconocimiento de antígeno. Un
 anticuerpo incluye un anticuerpo de cualquier clase, tales como IgG, IgA o IgM (o sub clase de los mismos), y el
 anticuerpo no necesita ser de cualquier clase en particular. Dependiendo de la secuencia de aminoácido de
 20 anticuerpo del dominio constante de sus cadenas pesadas, las inmunoglobulinas se pueden asignar a diferentes
 clases. Hay cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG, y IgM, y varias de estas pueden
 dividirse además en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 y IgA2. Los dominios constantes
 de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan alfa, delta, épsilon,
 gamma y mu, respectivamente. Las estructuras de las subunidades y tres configuraciones tridimensionales de
 diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas.

"Fv" es un fragmento de anticuerpo que contiene un reconocimiento de antígeno completo y el sitio de unión. En una
 especie Fv de dos cadenas, esta región consiste en un dímero de un dominio variable de cadena ligera y uno de
 25 cadena pesada en asociación estrecha, no covalente. En una especie de cadena única Fv, un dominio variable de
 cadena pesada y una de cadena ligera puede unirse covalentemente por un enlazador peptídico flexible tal que las
 cadenas ligera y pesada pueden asociarse en una estructura dimerica análoga a la de una cadena de dos especies
 Fv. Es en esta configuración que las tres CDRs de cada dominio variable interactúan para definir una especificidad
 de unión de antígeno en la superficie del dímero VH-VL. Sin embargo, incluso un único dominio variable (o la mitad
 de un Fv que comprende solamente 3 CDR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse a
 30 antígeno, aunque generalmente a una afinidad menor que el sitio de unión.

El fragmento Fab también contiene el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante (CH1) de
 la cadena pesada. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab por la adición de unos pocos residuos en el
 extremo carboxi del dominio de cadena pesada CH1, incluyendo una o más cisteínas de las regiones bisagra del
 anticuerpo. Un fragmento F(ab)₂ es un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un
 35 puente de disulfuro en la región bisagra.

Un anticuerpo puede tener uno o más sitios de unión (para la combinación con el antígeno). Si hay más de un sitio
 de unión, los sitios de unión pueden ser idénticos entre sí o pueden ser diferentes. Por ejemplo, una inmunoglobulina
 de origen natural tiene dos sitios de unión idénticos, un anticuerpo de cadena o fragmento Fab tiene un sitio de
 40 unión, mientras que un anticuerpo "bispesífico" o "bifuncional" (diacuerpo) tiene dos sitios de unión diferentes, en
 términos de secuencia y/o reconocimiento del antígeno/epítipo.

Un "anticuerpo aislado" es un anticuerpo que (1) no está asociado con componentes asociados naturalmente,
 incluyendo otros anticuerpos asociados naturalmente, que lo acompañan en su estado nativo, (2) está libre de otras
 45 proteínas de la misma especie, (3) se expresa por una célula de una especie diferente, o (4) no ocurre en la
 naturaleza.

Un "anticuerpo monoclonal" se refiere a una población de anticuerpos homogénea en la que el anticuerpo
 monoclonal está compuesto de aminoácidos (de origen natural y no de origen natural) que están involucrados en la
 50 unión selectiva de un antígeno. Una población de anticuerpos monoclonales es altamente específica, estando
 dirigida contra un único sitio antigénico. El término "anticuerpo monoclonal" abarca no sólo anticuerpos
 monoclonales intactos y anticuerpos monoclonales de longitud completa, sino también fragmentos de los mismos
 (tales como Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), de cadena sencilla (ScFv), mutantes de los mismos, proteínas de fusión que
 comprenden una porción de anticuerpo, y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina
 55 que comprende un sitio de reconocimiento del antígeno de la especificidad requerida y la capacidad de unión a un
 antígeno. No se pretende limitarse en lo que respecta a la fuente del anticuerpo o la manera en la que se hace (por
 ejemplo, por hibndoma, selección de fagos, expresión recombinante, animales transgénicos, etc.).

En la presente memoria, los anticuerpos "humanizados" se refieren a formas de anticuerpos no humanos (por
 60 ejemplo, murina) que son inmunoglobulinas quiméricas específicas, cadenas de inmunoglobulinas, o fragmentos de
 las mismas (tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ u otras subsecuencias de unión a antígeno de los anticuerpos) que
 contienen una secuencia mínima derivada de la inmunoglobulina no humana. En su mayor parte, los anticuerpos
 humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las que residuos de una región determinante
 65 (anticuerpo donante) del receptor se sustituyen por residuos de una CDR de una especie no humana
 (anticuerpo donante) como el ratón, rata o conejo que tiene la especificidad, afinidad deseada, y la actividad
 biológica. En algunos casos, residuos de región marco Fv (FR) de la inmunoglobulina humana se sustituyen por los

correspondientes residuos no humanos. Además, el anticuerpo humanizado puede comprender residuos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en CDR importada o secuencias marco, pero se incluyen para perfeccionar y optimizar el rendimiento del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente la totalidad de al menos uno, y típicamente dos, dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a una inmunoglobulina no humana y la totalidad o sustancialmente todas las regiones FR son las de una secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado óptimamente también comprenderá al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina o dominio (Fc), típicamente la de una inmunoglobulina humana. Los anticuerpos pueden tener regiones Fc modificadas como se describe en el documento WO 99/58572. Otras formas de anticuerpos humanizados tienen una o más CDRs (uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis) que están alterados con respecto al anticuerpo original, que también se denomina una o más CDR "derivadas de" una o más CDR de anticuerpo original.

En la presente memoria, "anticuerpo humano" significa un anticuerpo que tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente a la de un anticuerpo producido por un humano y/o se ha realizado utilizando cualquiera de las técnicas para hacer anticuerpos humanos conocidos en la técnica o descritos en este documento.

Esta definición de un anticuerpo humano incluye anticuerpos que comprenden al menos un polipéptido humano de cadena pesada o por lo menos un polipéptido de cadena ligera humana. Un ejemplo es un anticuerpo que comprende la cadena ligera de murina y los polipéptidos de cadena pesada humana. Los anticuerpos humanos pueden producirse usando varias técnicas conocidas en la técnica. En una realización, el anticuerpo humano se selecciona de una biblioteca de fagos, donde esa biblioteca de fagos expresa anticuerpos humanos (Vaughan et al, 1996, *Nature Biotechnology*, 14: 309-314; Sheets et al, 1998, *PNAS*, (EE.UU.) 95.: 6157-6162; Hoogenboom y Winter, 1991, *J. Mol Biol*, 227:381; Marks et al, 1991, *J. Biol MoP*, 222:581). Los anticuerpos humanos también se pueden hacer mediante la introducción de inmunoglobulina humana loci en animales transgénicos, por ejemplo, ratones en los que los genes de inmunoglobulina endógena han sido parcial o completamente inactivados. Este enfoque se describe en la patente de U.S. nº 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; y 5.661.016. Alternativamente, el anticuerpo humano se puede preparar inmortalizando linfocitos B humanos que producen un anticuerpo dirigido contra un antígeno diana (por ejemplo, linfocitos B pueden recuperarse de un individuo o pueden haber sido inmunizados *in vitro*). Véase, por ejemplo, Cole et al, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p.77 (1985); Boerner et al, 1991, *J. Immunol.*, 147 (1): 86-95; y la patente U.S. Nº. 5.750.373.

Un anticuerpo de cadena sencilla (scFc) es un anticuerpo en el que las regiones VL y VH se emparejan para formar una molécula monovalente mediante un enlazador sintético que les permite ser hecho como una cadena de proteína única (Bird et al *Science*, 242: 423-426 (1988) y Huston et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 85:5879-5883 (1988)).

Los diacuerpos son bivalentes, anticuerpos biespecíficos en los que los dominios VH y VL se expresan en una sola cadena polipeptídica, pero usando un enlazador que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, forzando de esta manera los dominios a emparejarse con dominios complementarios de otra cadena y creando dos sitios de unión a antígeno.

"Anticuerpos quiméricos" se refiere a aquellos anticuerpos en los que una porción de cada una de las secuencias de aminoácidos de cadenas pesada y ligera es homóloga a secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase particular correspondiente, mientras que el segmento restante de las cadenas es homólogo a las correspondientes secuencias en otro. Típicamente, en estos anticuerpos quiméricos, la región variable de cadenas ligeras y pesadas imita las regiones variables de anticuerpos derivados de una especie de mamíferos, mientras que las porciones constantes son homólogas a las secuencias en anticuerpos derivados de otra. Una ventaja clara de dichas formas quiméricas es que, por ejemplo, las regiones variables pueden convenientemente ser derivadas de fuentes actualmente conocidas, utilizando hibridomas fácilmente disponibles o células B de organismos hospedadores no humanos en combinación con regiones constantes derivadas de, por ejemplo, preparaciones celulares humanas. Mientras que la región variable tiene la ventaja de la facilidad de preparación, y la especificidad no se ve afectada por su fuente, siendo la región constante humana, es menos probable que provoquen una respuesta inmunitaria de un sujeto humano, cuando los anticuerpos son inyectados lo que lo haría la región constante de una fuente no humana. Sin embargo, la definición no se limita a este ejemplo particular.

Una "región Fc funcional" posee al menos una función efectora de una región de secuencia nativa Fc. Los ejemplos de "funciones efectoras" incluyen unión C1q: citotoxicidad dependiente del complemento (CDC); unión al receptor Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC); fagocitosis; regulación a la baja de los receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de células B; BCR), etc. Tales funciones efectoras generalmente requieren que la región Fc se combine con un dominio de unión (por ejemplo, un dominio variable de anticuerpo) y pueden evaluarse usando diversos ensayos conocidos en la técnica para la evaluación de tales funciones efectoras de anticuerpos.

Una "región Fc de secuencia nativa" comprende una secuencia de aminoácidos idéntica a la secuencia de aminoácidos de una región Fc encontrada en la naturaleza. Una "región Fc variante" comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la de una secuencia de la región Fc nativa en virtud de la modificación de al menos un

ácido amino, sin embargo, conserva al menos una función efectora de región Fc de secuencia nativa. Preferiblemente, la región Fc variante tiene al menos una sustitución de aminoácidos en comparación con una región Fc de secuencia nativa o para la región Fc de un polipéptido parental, por ejemplo, de aproximadamente una a aproximadamente diez sustituciones de aminoácidos, y preferiblemente de aproximadamente una a aproximadamente cinco sustituciones de aminoácidos en una región Fc de secuencia nativa o en la región Fc del polipéptido parental. La región Fc variante en este documento se poseen preferiblemente al menos aproximadamente 80% de identidad de secuencia con una región Fe de secuencia nativa y/o con una región Fc de un polipéptido parental, y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 90% con la misma identidad de secuencia, más preferiblemente al menos aproximadamente 95% con la misma identidad de secuencia.

Tal como se usa en el presente documento "anticuerpo dependiente de citotoxicidad mediadas por células" y "ADCC" se refieren a una célula de reacción mediada en la que células citotóxicas no específicas que expresan receptores Fc (FcR) (por ejemplo, células asesinas naturales (NK), neutrófilos y macrófagos) reconocen el anticuerpo unido en una célula diana y posteriormente causan la lisis de la célula diana. Actividad ADCC de una molécula de interés se puede evaluar usando un ensayo de ADCC in vitro, tal como el descrito en la Patente de U.S. N° 5.500.362 o 5.521.337. Células efectoras útiles para tales ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y células NK. Alternativamente, o adicionalmente, la actividad ADCC de la molécula de interés puede evaluarse in vivo, por ejemplo, en un modelo animal tal como el descrito en Clynes et al, 1998, PNAS (EE.UU.), 95:652-656.

Tal como se usa en este documento, "receptores Fc" y "FcR" describen un receptor que se une a la región Fc de un anticuerpo. El FcR preferido es una secuencia nativa de FcR humano. Por otra parte, una FcR preferida es uno que se une un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de la FcyRI, FcyRII, y subclases FcyRIII, incluyendo variantes alélicas y formas alternativamente empalmadas de estos receptores. Receptores FcyRII incluyen FcyRIIA (un "receptor activador") y FcyRIIB (un "receptor inhibidor"), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en los dominios citoplásmicos de los mismos. FcR se revisan en Ravetch y Kinet, 1991, Ann. Rev. Immunol, 9: 457-92; Capel et al., 1994, Immunomethods 4:25-34; y de Haas et al., 1995, J. Lab. Clin. Med., 126: 330-41. "FcR" también incluye el receptor neonatal, FcRn, que es responsable de la transferencia de IgGs mateARNs al feto (Guyer et al, 1976, J. Immunol, 117:587; y Kim et al, 1994, J. Immunol, 24:249.).

"Citotoxicidad dependiente del complemento" y "CDC" se refieren a la lisis de una diana en presencia del complemento. La ruta de activación del complemento se inicia por la unión del primer componente del sistema del complemento (C1q) a una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) acompañado con un antígeno cognado. Para evaluar la activación del complemento, un ensayo CDC, por ejemplo como se describe en Gazzano-Santoro et al, J. Immunol. Methods, 202:163 (1996), puede que se realice.

Como se usa en el presente documento, los términos "G1" y "anticuerpo G1" se utilizan indistintamente para referirse a un anticuerpo producido por los vectores de expresión con un número de depósito ATCC-PTA-6867 y ATCC-PTA-6866. La secuencia de aminoácidos de las regiones variable de cadena pesada y de la cadena ligera se muestran en SEQ ID N°s. 1 y 2. Las porciones de CDR de anticuerpo G1 (incluyendo CDRs de Chothia y Kabat) se representan esquemáticamente en la figura 5 de WO2007/054809. Los polinucleótidos que codifican regiones variables de cadena pesada y de cadena ligera se muestran en SEQ ID N°s. 9 y 10. La caracterización de anticuerpo G1 se describe en los Ejemplos de WO2007/054809. G1 es un anticuerpo de bloqueo monoclonal humanizado (IgG2), que bloquea la unión y la actividad del CGRP neuropéptido (A y B) y su efecto de vasodilatación neurogénica causada por la liberación de CGRP. G1 es un anticuerpo antagonista anti CGRP monoclonal IgG2Δa derivado del precursor de anticuerpo antagonista anti CGRP murino, denotado muMAb7E9 como se identifica en una pantalla usando células de bazo preparadas a partir de un ratón inmunizado con CGRP humanas y ratas que fueron fusionadas con células de plasmacitoma de murino. G1 fue creado mediante el injerto de las CDR de muMAb 7E9 derivadas de cadena ligera y pesada en la secuencia de línea germinal humana más cercana seguida por la introducción de al menos 1 mutación en cada CDR y 2 mutaciones de marco de V_H. Dos mutaciones se introdujeron en el dominio Fc de G1 para suprimir la activación del receptor humana FC15. G1 y muMAb7E9 han demostrado reconocer el mismo epítipo.

En la presente memoria, los términos "G2" y " anticuerpo G2" se utilizan indistintamente para referirse a un anticuerpo de monoclonal de ratón CGRP anti rata como se describe en Wong et al. Hibridoma 12:93-106 (1993). La secuencia de aminoácidos de las regiones variables de cadena pesada y de cadena ligera se muestran en SEQ ID N°s. 19 y 20. Los polinucleótidos que codifican las regiones variables de cadena pesada y ligera se muestran en SEQ ID N°s. 27 y 28. Las porciones de CDR de anticuerpo G2 se proporcionan en la SEQ ID N°s. 21 a 26. G2 se ha demostrado que reconocen el mismo epítipo que G1.

Como se usa en este documento, unión "inmunespecífica" de los anticuerpos se refiere a la interacción de unión específica del antígeno que se produce entre el sitio de combinación de antígeno de un anticuerpo y el antígeno específico reconocido por ese anticuerpo (es decir, el anticuerpo reacciona con la proteína en un ELISA u otro inmunoensayo, y no reacciona de forma detectable con proteínas no relacionadas).

Un epítopo que "se une específicamente" o "se une preferentemente" (usado de forma intercambiable en este documento) a un anticuerpo o un polipéptido es un término bien entendido en la técnica, y métodos para determinar tal unión específica o preferencial también se conocen bien en la técnica. Una molécula se dice que exhiben "unión específica" o "unión preferencial" si reacciona o se asocia más frecuentemente, más rápidamente, con mayor duración y/o con mayor afinidad con una célula particular o sustancia que lo hace con células o sustancias alternativas. Un anticuerpo "se une específicamente" o "se une preferentemente" a una diana si se une con mayor afinidad, avidez, más fácilmente, y/o con mayor duración que se une a otras sustancias. También se entiende por la lectura de esta definición que, por ejemplo, un anticuerpo (o resto o epítopo) que específicamente o preferentemente se une a una primera diana puede o puede no específicamente o preferentemente unirse a un segundo objetivo. Como tal, "unión específica" o "unión preferencial" no requiere necesariamente (aunque puede incluir) unión exclusiva. Generalmente, pero no necesariamente, la referencia a unión significa unión preferencial.

Los términos "polipéptido", "oligopéptido", "péptido" y "proteína" se utilizan indistintamente en este documento para referirse a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados, y puede ser interrumpido por no aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero de aminoácidos que ha sido modificado naturalmente o mediante intervención; por ejemplo, formación de enlaces de disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación, o cualquier otra manipulación o modificación, tal como conjugación con un componente de etiquetado. También se incluyen dentro de la definición están, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Se entiende que, debido a que los polipéptidos de esta invención se basan en un anticuerpo, los polipéptidos pueden ocurrir como cadenas sencillas o cadenas asociadas.

"Polinucleótido", o "ácido nucleico", como se usa indistintamente en este documento, se refiere a polímeros de nucleótidos de cualquier longitud, e incluyen ADN y ARN. Los nucleótidos pueden ser desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos, nucleótidos o bases modificadas, y/o sus análogos, o cualquier sustrato que se puede incorporar en un polímero mediante polimerasa de ADN o ARN. Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tales como nucleótidos metilados y sus análogos. Si está presente, la modificación a la estructura de nucleótidos se puede impartir antes o después del montaje del polímero. La secuencia de nucleótidos puede estar interrumpida por componentes no nucleótidos. Un polinucleótido puede modificarse adicionalmente después de la polimerización, como por conjugación con un componente de etiquetado. Otros tipos de modificaciones incluyen, por ejemplo, "topes", sustitución de uno o más nucleótidos de origen natural con un análogo, modificaciones de internucleótidos tales como, por ejemplo, aquellos con enlaces no cargados (por ejemplo, fosfonatos de metilo, fosfotriésteres, fosfoamidatos, cabamates, etc.) y con enlaces cargados (por ejemplo, fosforotioatos, fosforditioatos, etc.), aquellas que contienen restos colgantes, tales como, por ejemplo, proteínas (por ejemplo, nucleasas, toxinas, anticuerpos, péptidos de señal, ply-L-lisina, etc.), aquellos con intercaladores (por ejemplo, acridina, psoraleno, etc.), aquellas que contienen quelantes (por ejemplo, metales, metales radiactivos, boro, metales oxidantes, etc.), aquellas que contienen alquilantes, aquellos con enlaces modificados (por ejemplo, ácidos alfa anoméricos nucleicos, etc.), así como formas no modificadas del polinucleótido. Además, cualquiera de los grupos de hidroxilo normalmente presentes en los azúcares puede ser reemplazado, por ejemplo, por grupos de fosfonato, grupos de fosfato, protegidos por grupos protectores estándar o activados para preparar enlaces adicionales para nucleótidos adicionales, o se pueden conjugar a soportes sólidos. El terminal de OH 5' y 3' puede ser fosforilado o sustituido con aminas o fragmentos de grupos de tapado orgánico de entre 1 a 20 átomos de carbono. Otros hidroxilos también se pueden derivatizar a grupos protectores estándar. Los polinucleótidos también pueden contener formas análogas de azúcares de ribosa o desoxirribosa que se conocen generalmente en la técnica, incluyendo, por ejemplo, 2'-O-metilo, 2'-O-alilo, 2'-fluoro- o 2'-azido-ribosa, análogos de azúcar carbocíclicos, α -azúcares anoméricos, azúcares epiméricos tales como arabinosa, xilosas o lixosas, azúcares de piranosa, azúcares de furanosa, sedoheptulosas, análogos acíclicos y análogos de nucleósidos abásicos tales como metil ribósido. Uno o más vínculos de fosfodiéster pueden ser sustituidos por grupos de unión alteARNtivos. Estos grupos de unión alteARNtivos incluyen, pero no se limitan a, realizaciones en las que el fosfato se sustituye por P(O)S ("tioato"), P(S)S ("dilitioato"), (O)NR₂ ("amidato"), P(O)R, P(O)OR', CO o CH₂ ("formacetal"), en la que cada R o R' es independientemente H o alquilo sustituido o no sustituido (1-20 C) que contiene opcionalmente un éter (-O-) vinculación, arilo, alquenilo, cicloalquilo, cicloalquenilo o araldilo. No todos los enlaces en un polinucleótido necesitan ser idénticos. La descripción anterior se aplica a todos los polinucleótidos mencionados en el presente documento, incluyendo ARN y ADN.

Una "región variable" de un anticuerpo se refiere a la región variable de la cadena ligera del anticuerpo o la región variable de la cadena pesada del anticuerpo, ya sea solo o en combinación. Las regiones variables de la cadena pesada y ligera se componen cada uno de las cuatro regiones marco (FR) conectadas por tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR) también conocidas como regiones hipervariables. Las CDRs en cada cadena se mantienen juntas en estrecha proximidad por las FRs y, con las CDRs de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de anticuerpos de unión de antígeno. Existen al menos dos técnicas para determinar CDRs: (1) un enfoque basado en la variabilidad de secuencia de especies cruzadas (es decir, Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5^a ed, 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD.); y (2) un enfoque basado en estudios cristalográficos de complejos antígeno-anticuerpo (Chothia et al. (1989) Nature 342:877; Al-lazikani et al (1997) J. Molec Biol. 273:927-948)). Como se usa en este documento, una CDR puede referirse a CDRs definidas por cualquiera de los enfoques o por una combinación de ambos enfoques.

Una "región constante" de un anticuerpo se refiere a la región constante de la cadena ligera del anticuerpo o la región constante de la cadena pesada del anticuerpo, ya sea solo o en combinación.

5 Como se usa en este documento, un "anticuerpo antagonista de anti CGRP" (intercambiable denominado "anticuerpo anti CGRP") se refiere a un anticuerpo que es capaz de unirse a CGRP e inhibir la actividad biológica CGRP y/o vía(s) aguas abajo. Un anticuerpo del antagonista anti CGRP abarca anticuerpos que bloquean, antagonizan, inhiben o reducen (incluyendo significativamente) la actividad biológica CGRP. Para propósito de la presente invención, será explícitamente entendido que el término "anticuerpo antagonista anti CGRP" abarca todos los términos previamente identificados, títulos, y estados funcionales y las características por los sustancialmente se anulan, se disminuyen o se neutralizan la misma CGRP, una actividad biológica CGRP, o las consecuencias de la actividad biológica, en algún grado significativo. Ejemplos de anticuerpos antagonistas anti CGRP se proporcionan en este documento.

15 En la presente memoria, "sustancialmente puro" se refiere a material que es de una pureza de al menos 50% (es decir, libre de contaminantes), de una pureza más preferiblemente de al menos 90%, de una pureza más preferiblemente de al menos 95%, de una pureza más preferiblemente de al menos 98%, de una pureza más preferiblemente de al menos 99%.

20 Una "célula huésped" incluye una célula individual o cultivo celular que puede ser o ha sido un receptor para el vector para la incorporación de insertos de polinucleótidos. Las células huésped incluyen la progenie de una única célula huésped, y la progenie puede no ser necesariamente completamente idéntica (en morfología o en complemento de ADN genómico) a la célula parental original debido a la mutación natural, accidental o deliberada. Una célula huésped incluye células transfectadas in vivo con un polinucleótido de esta invención.

25 Tal como se usa en el presente documento, "tratamiento" es un enfoque para obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a uno o más de los siguientes: mejora o alivio de cualquier aspecto de dolor inflamatorio y/o síntoma de dolor inflamatorio. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: incluyendo la disminución de la gravedad, alivio de dolor y/o un síntoma asociado con el dolor inflamatorio.

35 Una "cantidad eficaz" de fármaco, compuesto, o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para efectuar resultados beneficiosos o deseados, incluyendo resultados clínicos tales como el alivio o la reducción de la sensación de dolor. Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones. Para los fines de esta invención, una cantidad eficaz de drogas, un compuesto, una composición farmacéutica, o es una cantidad suficiente para tratar, mejorar, reducir la intensidad de y/o prevenir el dolor inflamatorio o síntoma asociado con dolor inflamatorio. Como se entiende en el contexto clínico, una cantidad eficaz de un fármaco, compuesto, o composición farmacéutica puede o puede no conseguirse en conjunto con otro fármaco, compuesto, o composición farmacéutica. Por lo tanto, una "cantidad eficaz" se puede considerar en el contexto de la administración de uno o más agentes terapéuticos, y un único agente puede ser considerado para darse en una cantidad efectiva si, en conjunto con uno o más otros agentes, un resultado deseable puede lograrse o se logra.

45 En una realización, "preparado para" en el presente documento significa que el medicamento está en la forma de una unidad de dosificación o similar empaquetado y/o marcado para uso en la administración periférica.

"Reducir la incidencia" de dolor inflamatorio y/o un síntoma asociado con dolor inflamatorio significa cualquier reducción de la gravedad (que puede incluir la reducción de necesidad y/o cantidad de (por ejemplo, la exposición a) otros fármacos y/o terapias utilizados generalmente para estas condiciones), la duración, y/o frecuencia.

50 La "mejora" del dolor inflamatorio y/o un síntoma asociado con el dolor inflamatorio significa una disminución o mejora de uno o más síntomas de dolor inflamatorio y/o síntomas asociados con dolor inflamatorio en comparación con la no administración de un anticuerpo antagonista anti CGRP. La "amortiguación" también incluye el acortamiento o la reducción en la duración de un síntoma.

55 El dolor inflamatorio de "paliación" y/o un síntoma asociado con el dolor inflamatorio significa la disminución de la extensión de una o más manifestaciones clínicas no deseables de dolor inflamatorio en un individuo o población de individuos tratados con un anticuerpo antagonista anti CGRP de acuerdo con la invención.

60 Tal como se utiliza aquí, el "retraso" en el desarrollo de dolor inflamatorio significa aplazar, obstaculizar, entretener, retardar, estabilizar y/o posponer la progresión del dolor inflamatorio y/o un síntoma asociado con el dolor inflamatorio. Este retraso puede ser de diferentes longitudes de tiempo, dependiendo de la historia de la enfermedad y/o individuos que se está tratando. Como es evidente para un experto en la técnica, un retraso suficiente o significativo puede, en efecto, abarcar prevención, en que el individuo no desarrolla dolor inflamatorio. Un método que "retrasa" el desarrollo del síntoma es un método que reduce la probabilidad de desarrollar el síntoma en un marco de tiempo dado y/o reduce la extensión de síntomas en un marco de tiempo dado, en comparación con el no

uso del método. Tales comparaciones se basan típicamente en estudios clínicos, usando un número de sujetos estadísticamente significativo.

5 Una "muestra biológica" abarca una variedad de tipos de muestras obtenidas de un individuo y se puede utilizar en un ensayo de diagnóstico o de control. La definición abarca sangre y otras muestras líquidas de origen biológico, muestras de tejido sólido tal como una muestra de biopsia o cultivos de tejidos o células derivadas de los mismos, y la progenie de la misma. La definición también incluye muestras que han sido manipulados de cualquier forma después de su obtención, como por tratamiento con reactivos, solubilización, o enriquecimiento para ciertos componentes, tales como proteínas o polinucleótidos, o incrustación en una matriz sólida o semi sólida para seccionar propósitos. El término "muestra biológica" abarca una muestra clínica, y también incluye células en cultivo, 10 sobrenadantes celulares, lisados celulares, suero, plasma, fluido biológico, y muestras de tejidos.

Un "individuo" o "sujeto" es un vertebrado, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un humano. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, animales de granja (como vacas), animales de deporte, animales 15 domésticos (tales como gatos, perros y caballos), primates, ratones y ratas.

En la presente memoria, "vector" se refiere a una construcción, que es capaz de entregar, y expresa preferiblemente, uno o más gen(es) o secuencia(s) de interés en una célula huésped.

20 Los ejemplos de vectores incluyen, pero no se limitan a, vectores virales, vectores de expresión de ADN desnudo o ARN, plásmido, vectores de cósmido o fago, ADN o vectores de expresión de ARN asociados con los agentes catiónicos de condensación, ADN o vectores de expresión de ARN encapsulados en liposomas y determinadas células eucariotas, tales como células productoras.

25 Como se usa en este documento, "secuencia de expresión de control" significa una secuencia de ácido nucleico que dirige la transcripción de un ácido nucleico. Una secuencia de control de expresión puede ser un promotor, tal como un constitutivo o un promotor inducible, o un promotor. La secuencia de control de expresión está unida operativamente a la secuencia de ácido nucleico que se transcribe.

30 Como se usa en este documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier material que, cuando se combine con un ingrediente activo, permite que el ingrediente conserve actividad biológica y no es reactivo con el sistema inmune del sujeto. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar tales como solución salina tamponada de fosfato, agua, emulsiones tales como emulsión de aceite/agua, y diversos tipos de agentes humectantes. Los diluyentes preferidos para aerosol o administración parenteral son 35 solución salina tamponada con fosfato o (0,9%) solución salina normal. Las composiciones que comprenden tales vehículos se formulan por métodos convencionales bien conocidos (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, A. Gennaro, ed Remington, Mack Publishing Co. 20, Easton, PA, 1990; y Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20ª Ed. Mack Publishing, 2000).

40 El término "administrado periféricamente" como se usa aquí se refiere a la ruta por la que una sustancia, medicamento y/o anticuerpo antagonista anti CGRP se administra, en particular, significa que no se administra centralmente, no medularmente, no por vía intratecal, no se administra directamente en el sistema nervioso central. El término se refiere a vías de administración distintas de las inmediatamente anteriores, e incluye rutas que sean 45 orales, sublinguales, bucales, tópicas, rectales, por inhalación, transdermales, subcutáneas, intravenosas, intraarteriales, intramusculares, intracardiácas, intraóseas, intradérmicas, intraperitoneales, transmucosales, vaginales, intravítreas, intraarticulares, periarticulares, locales o epicutáneas.

El término "actúa periféricamente", tal como se usa aquí, se refiere al sitio de acción de una sustancia, compuesto, medicamento y/o anticuerpo antagonista anti CGRP, estando dicho sitio dentro del sistema nervioso periférico en comparación con el sistema nervioso central, dicho compuesto, medicamento y/o anticuerpo antagonista anti CGRP, estando limitados por incapacidad de atravesar la barrera al SNC y al cerebro cuando se administra periféricamente. 50

El término "penetración central" se refiere a la capacidad de una sustancia para cruzar la barrera para el cerebro o sistema nervioso central. 55

El término " K_{off} ", como se usa en el presente documento, pretende referirse a la constante de disociación de un anticuerpo del complejo anticuerpo/antígeno.

El término " K_d ", como se usa en el presente documento, pretende referirse a la constante de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno. 60

La presente invención está dirigida a un medicamento para la prevención y/o tratamiento del dolor y/o síntomas de dolor inflamatorio y métodos para la prevención y/o tratamiento del dolor inflamatori y/o síntomas de dolor inflamatorio en un individuo. 65

En un primer aspecto, la invención proporciona un anticuerpo antagonista anti CGRP para uso como un

medicamento para la prevención o el tratamiento de dolor artrítico, en el que el anticuerpo antagonista anti CGRP no se administra por vía intratecal.

Se describe el uso de un anticuerpo antagonista anti CGRP para la fabricación de un medicamento para mejorar, controlar, reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión del dolor inflamatorio y/o los síntomas de dolor inflamatorio, en el que el medicamento se prepara para la administración periférica o en el que el medicamento se administra periféricamente. Nosotros también describimos un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso en mejorar, controlar, reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión del dolor inflamatorio y/o los síntomas de dolor inflamatorio, en el que el anticuerpo se prepara para la administración periférica o en el que el anticuerpo se administra periféricamente.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, el individuo es preferiblemente un mamífero, por ejemplo un animal de compañía tal como un caballo, un gato o perro o un animal de granja tales como ovejas, vaca o cerdo. Más preferiblemente el mamífero es un humano.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, el medicamento y/o anticuerpo antagonista anti CGRP se prepara para administración oral, sublingual, bucal, tópica, rectal, inhalación, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intra arterial, intramuscular, intracardiaca, intraósea, intradérmica, intraperitoneal, transnucosal, vaginal, intravítrea, intraarticular, peri articular, la administración local o epicutánea.

Según una realización preferida adicional, el medicamento se está preparado para la administración periférica antes y/o durante y/o después del desarrollo del dolor inflamatorio.

En una realización, el anticuerpo antagonista anti CGRP actúa periféricamente en la administración. En una realización, el anticuerpo antagonista anti CGRP no se administra central, medular o intratecalmente.

Según la presente invención, el dolor inflamatorio es el dolor de artritis, que puede ser dolor de la artritis reumatoide o el dolor de la osteoartritis. Preferiblemente, el dolor inflamatorio es dolor de la osteoartritis.

Los usos y métodos de la invención pueden ser para la mejora de la función física en un individuo que tiene osteoartritis y/o la mejora de la rigidez en un individuo que tiene osteoartritis.

El diagnóstico o la evaluación de dolor de la artritis reumatoide está bien establecida en la técnica. La evaluación puede ser realizada sobre la base de medidas conocidas en la técnica, tales como la caracterización del dolor del paciente usando diversas escalas de dolor. Véase, por ejemplo, Katz et al, Surg Clin North Am. (1999) 79 (2): 231-52; Caraceni et al. J Pain Symptom Manage (2002) 23(3):23955. También hay escalas que se utilizan comúnmente para medir el estado de la enfermedad, como el Colegio Americano de Reumatología (ACR) (Felson, et al, Arthritis and Rheumatism (1993) 36(6):729-740), el Cuestionario de Evaluación de la Salud (HAQ) (Fries, et al, (1982) J. Rheumatol 9: 789-793), la Escala de Paulus (Paulus, et al, Arthritis and Rheumatism (1990) 33: 477-484), y la Escala de la Medida del Impacto de Artritis (AIMS) (Meenam, et al, Arthritis and Rheumatism (1982) 25: 1048-1053).

En una realización, mejorar, controlar, reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión del dolor y/o los síntomas de dolor de artritis reumatoide La artritis reumatoide es medida por uno o más de ACR, HAQ y AIMS.

El diagnóstico o evaluación de dolor de la osteoartritis también está bien establecido en la técnica. La evaluación puede realizarse basándose en las medidas conocidas en la técnica, tales como la caracterización de pacientes del dolor utilizando diversas escalas de dolor. Véase, por ejemplo, Katz et al, Surg Clin North Am. (1999) 79 (2):231-52; Caraceni et al. J Pain Symptom Manage (2002) 23(3): 23955. Por ejemplo, WOMAC Ambulation Pain Scale (incluyendo dolor, rigidez y función física) y 100 mm de Visual Analogue Scale (VAS) se puede emplear para evaluar el dolor y evaluar la respuesta al tratamiento.

En una realización, mejorar, controlar, reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión del dolor de osteoartritis y/o los síntomas de dolor de osteoartritis se mide por una o más de Escala de Dolor de Ambulación WOMAC y VAS.

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención del anticuerpo antagonista anti CGRP se une a CGRP, se une más preferiblemente a CGRP e inhibe la capacidad de CGRP para unirse al receptor de CGRP. Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP se une tanto a CGRP humanos y roedores, preferiblemente CGRP humano y de rata. Más preferiblemente, el anticuerpo se une a CGRP humano, más preferiblemente el anticuerpo antagonista anti CGRP se une a α -CGRP humano o α -CGRP humano y/o β -CGRP. Más preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP es un anticuerpo que exhibe una cualquiera o más de las siguientes características funcionales: (a) se une a CGRP; (b) bloques de CGRP de la unión a su receptor; (c) bloquea o disminuye la activación del receptor de CGRP, incluyendo la activación de cAMP; (d) inhibe, bloquea, suprime o reduce la actividad biológica CGRP, incluyendo las vías aguas abajo mediadas por la señalización de CGRP, tales como la unión al receptor y/o provocación de una respuesta celular a CGRP; (e) impide, aminora o trata a cualquier aspecto del dolor inflamatorio; (f) aumenta el aclaramiento del CGRP; e (g) inhibe (reduce), la síntesis, producción o

liberación de CGRP. Es conocido que los anticuerpos de la invención, incluyendo G1 y G2, se unen a CGRP y eliminan su disponibilidad biológica, por ejemplo, en el suero evitando de este modo el acceso de CGRP a sus receptores y las respuestas celulares aguas abajo y los efectos biológicos de CGRP, tales como los reflejos y la vasodilatación.

5 En una realización preferida adicional de la invención el anticuerpo antagonista anti CGRP se une a un fragmento de CGRP, más preferiblemente a un fragmento de CGRP, así como a la CGRP de longitud completa. Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP se une a la región C-terminal o fragmento de CRGP. El terminal de la región C o un fragmento de CRGP comprende preferiblemente los aminoácidos 19-37 o 25-37 o 29-37 o como alternativa 30-37, más alternativamente 31-37 de CGRP. En una realización adicional, la región terminal C o fragmento de CRGP comprende preferiblemente los aminoácidos 32-37 más preferiblemente 33 a 37 de CGRP. Preferiblemente, el CGRP es o bien α -CGRP o β -CGRP, aún más preferiblemente humanos o roedores, más preferiblemente un ser humano o de rata, más preferiblemente humano, además preferiblemente α -CGRP o β -CGRP humanos, lo más preferiblemente α -CGRP humano.

15 En una realización preferida adicional de la invención, el anticuerpo antagonista anti CGRP se une específicamente a la secuencia de aminoácidos GSKAF. Preferiblemente, la secuencia GSKAF de CGRP es el epítipo al que se une el anticuerpo antagonista de anti CGRP, preferiblemente a la posición 33 a 37, lo más preferiblemente la secuencia es GXXXF donde X puede ser cualquier aminoácido, preferiblemente en las posiciones 33 a 37 de CGRP, los extremos definidos por los aminoácidos G33 y F37 de CGRP.

20 En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo antagonista anti CGRP que se une específicamente a un epítipo definido por los aminoácidos G33 a F37 de CGRP. El anticuerpo antagonista anti CGRP puede unirse específicamente al epítipo definido por la secuencia de aminoácidos GSKAF. En una realización, la presente invención proporciona el uso de un anticuerpo tal en los usos y los métodos definidos en los diversos aspectos de la presente invención.

25 En una realización, el anticuerpo antagonista anti CGRP inhibe o impide la activación del receptor de CGRP. Preferiblemente, el anticuerpo anti CGRP tiene un IC₅₀ de entre 0,0001 (0,1 nM) y 500 μ M. En algunas realizaciones preferidas, el IC₅₀ está entre 0,0001 μ M, y es, o es aproximadamente, cualquiera de 250 μ M, 100 μ M, 50 μ M, 10 μ M, 1 μ M, 500 nM, 250 nM, 100 nM, 50 nM, 20 nM, 15 nM, 10 nM, 5 nM, 1 nM, o 0,5 nM como se mide en un ensayo de unión in vitro. En algunas formas de realización preferidas adicionales, IC₅₀ es inferior a cualquiera de 500 pM, o 100 pM, o 50 pM, tal como se mide en un ensayo de unión in vitro. En una realización adicional más preferida IC₅₀ es 1,2 nM o 31 nM.

30 En una realización preferida adicional, el anticuerpo antagonista anti CGRP que se utiliza es capaz de competir con un anticuerpo que se ha descrito anteriormente para la unión de CGRP o a un fragmento de CGRP, o a un fragmento de CGRP así como el CGRP de longitud completa, preferiblemente a la región C-terminal o fragmento de CRGP, preferiblemente la región C-terminal o fragmento de CRGP comprende los aminoácidos 19-37 o 25-37 o 29-37 o como alternativa 30-37, más alternativamente 31-37 de CGRP. En una realización adicional, la región C-terminal o fragmento de CRGP comprende preferiblemente los aminoácidos 32-37, más preferiblemente de 33 a 37 de CGRP.

35 En una realización preferida adicional, la porción de anticuerpo antagonista anti CGRP o antígeno de unión del mismo, como se usa en la invención es capaz de competir con un anticuerpo antagonista anti CGRP aquí anteriormente descrito, en particular, G1 o G2 como aquí se describen, por:

40 (a) la unión de CGRP o un fragmento de CGRP, o un fragmento de CGRP así como el CGRP de longitud completa, preferiblemente la región C-terminal o fragmento de CRGP, preferiblemente la región terminal C o fragmento de CRGP que comprende los aminoácidos 19-37 o 25-37 o 29-37 o, alternativamente, 30-37, más alternativamente 31-37, preferiblemente aminoácidos 32-37, más preferiblemente 33 a 37 de CGRP, preferiblemente el CGRP es alfa o beta, preferiblemente beta, más preferiblemente roedor o humano, más preferiblemente un ser humano,

45 (b) la unión de la secuencia de epítipo GSKAF, preferiblemente en la posición de aminoácidos 33 a 37 de CGRP como se define en (a), más preferiblemente a la secuencia GXXXF, donde X es cualquier aminoácido, preferiblemente GXXXF en la posición de aminoácidos 33 a 37 de CGRP como se define en (a),

50 (c) la unión como se describe en (a) o (b) con sustancialmente la misma K_d y/o sustancialmente la misma K_{off} y/o

55 (d) la unión a CGRP e inhibir/antagonizar la actividad biológica CGRP y/o vía(s) aguas abajo, preferiblemente el CGRP es alfa o beta, preferentemente beta, más preferentemente de roedores o humanos, más preferiblemente de humanos.

60 El anticuerpo antagonista anti CGRP se une preferentemente a CGRP, región de CGRP o un fragmento de CGRP con una afinidad de unión (K_d) de entre 0,000001 μ M (0,001 nM) o 0,00001 μ M (0,01 nM) a 500 μ M. En algunas realizaciones preferidas, la afinidad de unión (K_d) es de entre 0,000001 μ M o 0,00001 μ M y, o es de aproximadamente, cualquiera de 250 μ M, 100 μ M, 50 μ M, 10 μ M, 1 μ M, 500 nM, 250 nM, 100 nM, 50 nM, 20 nM, 15

nM, 10 nM, 5 nM, 1 nM, 0,5 nM, 1 nM, 0,05 nM, o 0,01 nM, 0,005 RIM, 0,001 nM, según se mide en un ensayo de unión in vitro. En algunas formas de realización preferidas adicionales, la afinidad de unión (Kd) es inferior a cualquiera de 500 pM, o 100 pM, 50 pM, o 10 pM, 5 pM, 1 pM, tal como se mide en un ensayo de unión in vitro. En una realización, la unión de afinidad más preferida (Kd) es de 0,04 nM o 16 nM.

El anticuerpo antagonista anti CGRP tal como se utiliza en la presente invención puede ser seleccionado del grupo de: anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fc, ScFv, etc.), anticuerpos quiméricos, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos heteroconjugados, de cadena sencilla (scFv), anticuerpos mutantes de la misma, proteínas de fusión que comprende una porción de anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo de dominio), anticuerpos humanizados, y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprende un sitio de reconocimiento del antígeno de la especificidad requerida, incluyendo variantes de anticuerpos de glicosilación, variantes de secuencia aminoacídica de anticuerpos, y anticuerpos modificados covalentemente. El anticuerpo antagonista anti CGRP puede ser murino, de rata, humano, o de cualquier otro origen (incluyendo anticuerpos quiméricos o humanizados). En algunas realizaciones, el anticuerpo antagonista anti CGRP puede ser humanizado, pero es más preferiblemente un ser humano. Preferiblemente se aísla el anticuerpo antagonista anti CGRP, aún más preferiblemente es sustancialmente pura. Cuando el anticuerpo antagonista anti CGRP es un fragmento de anticuerpo el fragmento retiene preferiblemente las características funcionales del anticuerpo original es decir, la actividad antagonista y/o de unión de CGRP como se describe en las características funcionales descritas anteriormente.

Los ejemplos de anticuerpos antagonistas anti CGRP son conocidos en la técnica. Por lo tanto, según una realización preferida de la presente invención, el anticuerpo antagonista anti CGRP como se utiliza en la presente invención es preferiblemente un anticuerpo anti CGRP, como se describe en general o específicamente en cualquiera de (i) W02007/054809, (ii) W02007/076336, (iii) Tan et al., Clin. Sci. (Lond). 89:565-73, 1995, (iv) Sigma (Missouri, EE.UU.), número de producto C7113 (clon#4901), (v) Plourde et al, péptidos 14:1225-1229, 1993 o que comprende o consiste en:

- (a) un fragmento de dicho anticuerpo (por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fc, ScFv, etc.),
- (b) una cadena ligera de dicho anticuerpo,
- (c) una cadena pesada de dicho anticuerpo,
- (d) uno o más de la región variable a partir de una cadena ligera y/o una cadena pesada de dicho anticuerpo,
- (e) una o más CDR (s) (uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR) de dicho anticuerpo,
- (f) CDR H3 de la cadena pesada de dicho anticuerpo,
- (g) CDR L3 de la cadena ligera de dicho anticuerpo,
- (h) tres CDR de la cadena ligera de dicho anticuerpo,
- (i) tres CDR de la cadena pesada de dicho anticuerpo,
- (j) tres CDR de la cadena ligera y tres CDR de la cadena pesada, de dicho anticuerpo,
- (k) uno cualquiera o más de (a) a través de (j).

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, el anticuerpo antagonista anti CGRP es anticuerpo G2 o anticuerpo G1. De acuerdo con una forma de realización más preferida de la presente el anticuerpo antagonista anti CGRP que se utiliza es el anticuerpo anti CGRP G1 como se da a conocer específicamente en la solicitud de patente WO2007/054809, o que comprende sus variantes de muestra en la Tabla 6 de WO2007/054809, que también incluye anticuerpos funcionalmente equivalentes a G1, es decir, que comprende sustituciones conservadoras de residuos de aminoácidos o una o más deleciones o adiciones de aminoácidos que no afectan de manera significativa sus características funcionales, por ejemplo, unión de CRGP o actividad antagonista y variantes y los cuales han mejorado o disminuido la actividad y/o vinculante. En la presente memoria, los términos "G1" y "anticuerpo G1" se utilizan indistintamente para referirse a un anticuerpo producido por los vectores de expresión con un número de depósito de ATCC PTA-6867 y ATCC PTA-6866 como se describe en la solicitud WO2007/054809.

Tabla 6 del WO2007/054809 se expone a continuación, y se refirió a este documento como Tabla 3.

La Tabla 3 muestra las indicaciones geográficas y las variantes de anticuerpo G1 con sus afinidades tanto en α -CGRP de rata y α -CGRP humano. Todas las sustituciones de aminoácidos de las variantes mostradas en la Tabla 3 se describen con respecto a la secuencia de G1. Las afinidades de unión de fragmentos Fab se determinaron mediante Biacore haciéndolos fluir a través de CGRPs en un chip de SA.

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos y de afinidad de enlace de datos para variantes de anticuerpo G1 determinadas a 37°C por Biacore.

ES 2 584 907 T3

Clon	L1	L2	H2	HC-FW3	α -rat (1fs)	k_{off}	α -rat (nM)	K_{off}	α -humano K_p (1/S)	α -humano K_D (nM)
G1					3.99×10^{-4}		2.57		3.63×10^{-5}	0.063
M1				A100L	1.10×10^{-3}				1.73×10^{-4}	
M2				L99A A100R	2.6×10^{-3}		58		3.1×10^{-4}	3
M3				L99A A100S	2.0×10^{-3}		61		2.1×10^{-4}	1.7
M4				L99A A100V	1.52×10^{-3}		84.4		6.95×10^{-5}	0.43
M5				L99A A100Y	7.35×10^{-4}		40.8		3.22×10^{-5}	0.20
M6				L99N	7.84×10^{-4}		43.6		1.33×10^{-4}	0.83
M7				L99N A100C	9.18×10^{-4}		51.0		2.43×10^{-4}	1.52
M8				L99N A100G	7.45×10^{-4}		41.4		9.20×10^{-5}	0.58
M9				L99N A100Y	n.d.		n.d.		1.00×10^{-5}	0.06
M10				L99S A100S	1.51×10^{-3}		83.9		1.73×10^{-4}	1.08
M11				L99S A100T	4.83×10^{-3}		268.3		2.83×10^{-4}	1.77
M12				L99S A100V	1.94×10^{-3}		107.8		1.01×10^{-4}	0.63
M13				L99T A100G	1.84×10^{-3}		102.2		1.86×10^{-4}	1.16
M14				L99T A100K	n.d.		n.d.		1.00×10^{-3}	0.06
M15				L99T A100P	1.15×10^{-3}		63.9		1.58×10^{-5}	0.10
M16				L99T A100S	9.96×10^{-4}		55.3		1.65×10^{-4}	1.03
M17				L99T A100V	2.06×10^{-3}		114.4		1.85×10^{-4}	1.16
M18				L99V A100G	1.22×10^{-3}		67.8		7.03×10^{-5}	0.44
M19				L99V A100G	n.d.		n.d.		1.00×10^{-5}	0.06
M20	R28W			L99R A100L	1.44×10^{-3}		80.0		1.36×10^{-4}	0.85
M21	R28W			L99S	6.95×10^{-4}		15.2		1.42×10^{-4}	1.23
M22	R28W			L99T	1.10×10^{-3}		61.1		1.16×10^{-4}	0.73
M23	R28G			L99T A100V	7.99×10^{-4}		44.4		1.30×10^{-4}	0.81
M24	R28L			L99T A100V	1.04×10^{-3}		57.8		1.48×10^{-4}	0.93
M25	R28N			L99T A100V	1.4×10^{-3}		76		1.4×10^{-4}	1.3
M26	R28N		A57G	L99T A100V	9.24×10^{-4}		51.3		1.48×10^{-4}	0.93
M27	R28N T30A			L99T A100V	3.41×10^{-3}		189.4		3.57×10^{-4}	2.23
M28	R28N T30D		E54R A57N	L99T A100V	1.25×10^{-3}		69.4		9.96×10^{-5}	0.62
M29	R28N T30G			L99T A100V	3.59×10^{-3}		199.4		3.80×10^{-4}	2.38
M30	R28N T30G		E54K A57E	L99T A100V	6.38×10^{-3}		354.4		5.90×10^{-4}	3.69
M31	R28N T30G		E54K A57G	L99T A100V	3.61×10^{-3}		200.6		3.47×10^{-4}	2.17

ES 2 584 907 T3

(continuación)

	Clon	L1	L2	H2	HC-FW3	α -rat (1fs)	k_{off}	α -rat K_{off} (nM)	α -humano K_p (1/S)	α -humano K_D (nM)
5	M32	R28N T30G		E54K A57H	L99T A100V	2.96×10^{-3}		164.4	2.71×10^{-4}	1.69
	M33	R28N T30G		E54K A57N S58G	L99T A100V	9.22×10^{-3}		512.2	7.50×10^{-4}	4.69
10	M34	R28N T30G		E54K A57N S58T	L99T A100V	2.17×10^{-3}		120.6	6.46×10^{-4}	4.04
	M35	R28N T30G		E54K A57S	L99T A100V	3.99×10^{-3}		221.7	3.39×10^{-4}	2.12
15	M36	R28N T30R			L99T A100V	4.79×10^{-3}		266.1	2.39×10^{-4}	1.49
	M37	R28N T30S		A57G	L99T A100V	1.45×10^{-3}		80.6	2.26×10^{-4}	1.41
20	M38	R28N T30W			L99T A100V	5.11×10^{-3}		283.9	2.18×10^{-4}	1.36
	M39	R28N	G50A L56T	A57N S58Y	L99T A100V	9.95×10^{-3}		552.8	4.25×10^{-4}	266
25	M40	R28N	G50A L56T	E54K A57L	L99T A100V	0.36		20000.0	1.28×10^{-3}	8.00
	M41	R28N	G50A L56T	E54K A57N E64D	L99T A100V	4.53×10^{-3}		2517	210×10^{-4}	1.31
30	M42	R28N	G50A L56T	E54K A57N H61F	L99T A100V	7.52×10^{-3}		417.8	4.17×10^{-4}	2.61
	M43	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58C	L99T A100V	4.53×10^{-3}		251.7	2.63×10^{-4}	1.64
35	M44	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58E	L99T A100V	6.13×10^{-3}		443	2.10×10^{-4}	2.05
	M45	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58E E64D	L99T A100V	5.58×10^{-3}		1 259	2.11×10^{-4}	1.85
40	M46	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58E H61F	L99T A100V	2.94×10^{-3}		163.3	5.39×10^{-4}	3.37
45	M47	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58G	L99T A100V	8.23×10^{-3}		457.2	3.32×10^{-4}	2.08
50	M48	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58L	L99T A100V	0.0343		1905.6	8.42×10^{-4}	5.26
	M49	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58Y H61F	L99T A100V	0.0148		822.2	5.95×10^{-4}	3.72
55	M50	R28N	G50A L56T	E54K A57R	L99T A100V	5.30×10^{-3}		294.4	4.06×10^{-4}	2.54
	M51	R28N	L561	E54K A57G	L99T A100V	1.18×10^{-3}		65.6	1.31×10^{-4}	0.82
60	M52	R28N	L561	E54K A57N S58A	L99T A100V	2.29×10^{-3}		127.2	2.81×10^{-4}	1.76
65	M53	R28N	L561	E54K A57N S58G	L99T A100V	1.91×10^{-3}		106.1	3.74×10^{-4}	2.34

ES 2 584 907 T3

(continuación)

Clon	L1	L2	H2	HC-FW3	α -rat (1fs)	k_{off}	α -rat K_{off} (nM)	α -humano K_p (1/S)	α -humano K_D (nM)
5	M54	R28N T30A	G50A	E54K A57N S58P	L99T A100V	2.16×10^{-3}	120.0	1.79×10^{-4}	11.19
10	M55	R28N T30A	L56S	E54K A57N S58E E64D	L99T A100V	5.85×10^{-3}	325.0	4.78×10^{-4}	2.99
15	M56	R28N T30D	L56S	E54K A57N H61F	L99T A100V	9.3500×10^{-3}	519.4	4.79×10^{-4}	2.99
20	M57	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58E	L99T A100V	0.0104	1,200	3.22×10^{-4}	3.08
25	M58	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58I H61F	L99T A100V	No vinculante	n.d.	1.95×10^{-3}	12.19
30	M59	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58N H61F	L99T A100V	0.0123	683.3	5.24×10^{-4}	3.28
35	M60	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58R H61F	L99T A100V	0.0272	1511.1	9.11×10^{-4}	5.69
40	M61	R28N T30G	A51H	E540 A57N H61F	L99T A100V	5.21×10^{-3}	289.4	4.59×10^{-4}	2.87
45	M62	R28N T30G	A51H L56T	E54K A57N S58E	L99T A100V	5.75×10^{-3}	242	5.57×10^{-4}	5.86
50	M63	R28N T30G	G50A	E54K A57N S58T	L99T A100V	2.65×10^{-3}	147.2	1.50×10^{-3}	9.38
55	M64	R28N T30G	G50A	E54K A57N S58V	L99T A100V	0.0234	1300.0	1.32×10^{-3}	8.25
60	M65	R28N T30G	G50A L561	E54K A57C	L99T A100V	4.07×10^{-3}	226.1	8.03×10^{-4}	5.02
65	M66	R28N T30G	L561	E54K A57E	L99T A100V	5.11×10^{-3}	283.9	5.20×10^{-4}	3.25
	M67	R28N T30G	L561	E54K A57F	L99T A100V	1.71×10^{-3}	95.0	8.20×10^{-4}	5.13
	M68	R28N T30G	L561	E54K A57N S58D E64D	L99T A100V	6.76×10^{-3}	375.6	4.28×10^{-4}	2.68
	M69	R28N T30G	L561	E54K A57N S58E	L99T A100V	1.81×10^{-3}	100.6	7.33×10^{-4}	4.58
	M70	R28N T30G	L561	E54K A57S	L99T A100V	6.07×10^{-3}	337.2	5.59×10^{-4}	3.49
	M71	R28N T30G	L561	E54K A57Y	L99T A100V	2.12×10^{-3}	117.8	1.28×10^{-3}	8.00
	M72	R28N T30G	L56S	E54K	L99T A100V	3.95×10^{-3}	219.4	4.00×10^{-4}	2.50
	M73	R28N T30G	L56S	E54K A57N S58Y E64D	L99T A100V	3.00×10^{-3}	166.7	2.55×10^{-4}	1.59

(continuación)

Clon	L1	L2	H2	HC-FW3	α -rat K_{off} (1fs)	α -rat K_{off} (nM)	α -humano K_D (1/S)	α -humano K_D (nM)
5 M74	R28N T30G	L56S	E54K A57S	L99T A100V	6.03x10 ⁻³	335.0	5.97x10 ⁻⁴	3.73
M75	R28N T30G	L56S	E54K A57V	L99T A100V	1.87x10 ⁻²	1038.9	1.16x10 ⁻³	7.25
10 M76	R28N T30S	G50A L56T	A57G	L99T A100V	1.16x10 ⁻³	64.4	3.6400-4	2.28
M77	R28N T30S	G50A L56T	E54K A57D	L99T A100V	0.0143	794.4	4.77x10 ⁻⁴	2.98
15 M78	R28N T30S	G50A L56T	E54K A57N S58T	L99T A100V	0.167	9277.8	1.31x10 ⁻³	8.19
M79	R28N T30S	G50A L56T	E54K A57P	L99T A100V	0.19	10555. 6	1.29x10 ⁻³	8.06
20 M80	R28N T30S	L56I	E54K A57N S58V	L99T A100V	0.0993	5516.7	2.09x10 ⁻³	13.06
M81	R28N T30S	L56S	E54K A57N S58E	L99T A100V	4.29x10 ⁻³	238.3	4.90x10 ⁻⁴	3.06
25 M82	R28N T30V	A51H L56T	A57N	L99T A100V	6.99x10 ⁻³	388.3	8.77x10 ⁻⁴	5.48
M83	R28N T30V	A51H L56T	E54K A57N S58M H61F	L99T A100V	No vinculante	n.d.	9.33x10 ⁻⁴	5.83
30 M84	R28N T30V	A51H L56T	E54N A57N	1991 A100V	1.7600-2	977.8	1.0800- 3	6.75

35 De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, el anticuerpo antagonista anti CGRP comprende o consiste en un polipéptido seleccionado de: (a) anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809; (b) un fragmento o una región de anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809; (c) una cadena ligera del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 del WO2007/054809; (d) una cadena pesada de anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809 (e) una o más region(es) variable(s) a partir de una cadena ligera y/o una cadena pesada de anticuerpo G1 o sus variantes se muestra en la Tabla 6 de WO2007/054809; (f) una o más CDR(s) (uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDRs) del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809; (g) CDR H3 de la cadena pesada del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809; (h) CDR L3 de la cadena ligera del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809; (i) tres CDR de la cadena ligera del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809; (j) tres CDR de la cadena pesada del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809; (k) tres GDRs de la cadena ligera y/o tres CDRs de la cadena pesada, de anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809; y (l) un anticuerpo que comprende uno cualquiera de (b) a (k). La invención también proporciona polipéptidos que comprenden uno cualquiera o más de los anteriores. En algunas realizaciones, la al menos una, dos, tres, cuatro, cinco, o seis CDR(s) son al menos aproximadamente el 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a por lo menos uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDRs de G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809.

55 La determinación de regiones de CDR está dentro de la capacidad de la persona experta. Se entiende que en algunas realizaciones, las CDR pueden ser una combinación de la Kabat y Chothia CDR. En algunas realizaciones, las CDR son las CDR de Kabat. En otras realizaciones, las CDR son las Chothia de CDR.

60 El anticuerpo antagonista anti CGRP preferiblemente comprende o consiste en un fragmento o una región de anticuerpo G1 (por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fc, ScFv, etc.) o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de WO2007/054809. Preferiblemente dicho fragmento o región tiene las características funcionales de un anticuerpo antagonista anti CGRP por ejemplo actividad de unión CGRP y/o actividad antagonista y comprende o consiste en una o más de una cadena ligera, la cadena pesada, fragmento que contiene una o más regiones variables de una cadena ligera y/o una cadena pesada, o una o más CDR de una cadena ligera y/o pesada de una cadena del anticuerpo G1.

65 Según una realización preferida adicional de la invención, el anticuerpo antagonista anti CGRP comprende una

- región variable de cadena ligera, LCVR, que comprende un péptido con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 28-32 y/o una región variable de cadena pesada, HCVR, que comprende un péptido con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 34-38 de la solicitud de patente WO2007/076336.
- 5 Más preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP comprende un polipéptido LCVR de una SEQ ID NO como se muestra en la Tabla 1 de la solicitud de patente WO2007/076336 y comprende además un polipéptido HCVR de un SED ID NO como se muestra en la Tabla 1 de una solicitud de patente WO2007/076336.
- 10 De acuerdo con una realización adicional de la invención, el anticuerpo antagonista anti CGRP utilizado comprende una cadena ligera CDR (CDRL) seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 8-13 y/o una cadena pesada CDR (CDRH) seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NOs: 14-22 de la solicitud de patente WO2007/076336.
- 15 Los métodos para preparar y aislar los anticuerpos antagonistas anti CGRP de la solicitud WO2007/076336 y datos que demuestran la unión del CGRP y la caracterización antagonista de la misma se describen en la aplicación WO2007/076336.
- 20 Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso en la presente invención comprende un dominio VH que es al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idénticas en secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 19 que se muestra en este documento.
- 25 Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP comprende un dominio VL que es al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idénticas en secuencia de aminoácidos con la SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 20 que se presenta en este documento.
- 30 El anticuerpo antagonista anti CGRP comprende preferiblemente un dominio VH y un dominio VL que son de al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idénticas en secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 1 y 2, respectivamente, o SEQ ID NO: 19 y 20 que se muestra en este documento, respectivamente.
- 35 Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP comprende un dominio VH que es al menos 90% idéntica en secuencia de aminoácidos con la SEQ ID NO: 1 y un dominio VL que es al menos 90% idéntica en secuencia de aminoácidos con la SEQ ID NO: 2 que se presenta en este documento.
- 40 Alternativamente, el anticuerpo antagonista anti CGRP preferiblemente comprende un dominio VH que es al menos 90% idéntica en secuencia de aminoácidos con la SEQ ID NO: 19 y un dominio VL que es al menos 90% idéntica en secuencia de aminoácidos con la SEQ ID NO: 20 presentada en este documento.
- 45 El anticuerpo antagonista anti CGRP comprende preferiblemente al menos un CDR seleccionado entre el grupo que consiste en: (a). CDR H1 como se expone en SEQ ID NO: 3 o 21; (b). CDR H2 como se expone en SEQ ID NO: 4 o 22; (c). CDR H3 como se expone en SEQ ID NO: 5 o 23; (d). CDR L1 como se expone en SEQ ID NO: 6 o 24; (e) CDR L2 como se expone en SEQ ID NO: 7 o 25; (f). CDR L3 como se expone en SEQ ID NO: 8 o 26; y (g). Variantes de CDR L1, CDR L2 y CDR H2, como se muestra en la Tabla 6 del WO2007/054809.
- 50 De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la cadena pesada de la región constante de anticuerpo antagonista anti CGRP puede ser de cualquier tipo de región constante, tales como IgG, IgM, IgD, IgA, e IgE; y cualesquiera isotipos, tales como IgG1, IgG2, IgG3, y IgG4.
- 55 Más preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP comprende una cadena pesada producida por el vector de expresión con el nº de Acceso ATCC PTA-6867. Además, preferiblemente el anticuerpo antagonista anti CGRP comprende una cadena ligera producida por el vector de expresión con el nº de Acceso ATCC PTA-6866. Además, preferiblemente el anticuerpo antagonista anti CGRP es producido por los vectores de expresión con acceso ATCC N{s. PTA-6867 y PTA-6866.
- 60 Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso en la presente invención es un anticuerpo G1 o anticuerpo G2 que se define aquí.
- 65 Según una realización adicional de la invención, el anticuerpo antagonista anti CGRP comprende una región constante modificada como se describe por ejemplo en WO2007/054809. Preferiblemente, la región constante modificada es inmunológicamente inerte, incluyendo parcialmente inmunológicamente inerte, de manera que no se activa la lisis mediada por complemento, no estimula la citotoxicidad mediada por células dependientes de

anticuerpos (ADCC), no se activa la microglia. Preferiblemente, la región constante modificada se reduce en una o más de estas actividades. Lo más preferiblemente, la región constante se modifica como se describe en Eur. J. Immunol. (1999) 29: 2613-2624; La solicitud PCT n° PCT/GB99/01441; y/o solicitud de patente del Reino Unido n° 9809951.8. De acuerdo con una realización preferida de la invención, el anticuerpo antagonista anti CGRP comprende una región constante de cadena pesada humana IgG2 que comprende las siguientes mutaciones: A330, P331 a S330, S331 (numeración de aminoácidos con referencia a la secuencia de tipo salvaje IgG2). Eur. J. Immunol. (1999) 29: 2613-2624.

Los métodos de preparación y aislamiento de los anticuerpos antagonistas anti CGRP de aplicación WO2007/054809 y datos que demuestran la unión del CGRP y caracterización antagonista de la misma se describen en la solicitud WO2007/054.809. Las secuencias de SEQ ID N°. 1 a 14 de dicha solicitud se proporcionan en el presente documento como SEQ ID N°. 1 a 14, respectivamente.

Según una realización adicional de la presente invención, el medicamento se prepara para administración periférica entre una vez a 7 veces por semana, más preferiblemente entre una a cuatro veces al mes, aún más preferentemente entre una vez a seis veces por período de 6 meses, aún más preferiblemente una vez a doce veces al año. Preferiblemente, el medicamento se prepara para ser administrado periféricamente en un período seleccionado de: una vez al día, una vez cada dos, tres, cuatro, cinco o seis días, semanalmente, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, mensualmente, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, una vez cada cuatro meses, una vez cada cinco meses, una vez cada seis meses, una vez cada siete meses, una vez cada ocho meses, una vez cada nueve meses, una vez cada diez meses, una vez cada once meses o anualmente. Según las realizaciones preferidas se prepara el medicamento para administrarse periféricamente a través de una ruta seleccionada de una o más de; por vía oral, sublingual, bucal, tópica, rectal, por inhalación, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intraarterial o intramuscular, a través de la administración intracardiaca, intraósea, intradérmica, intraperitoneal, transmucosa, por vía vaginal, por vía intravítrea epicutánea, intraarticular, periarticular o local.

Según una realización adicional de la presente invención, el medicamento se prepara para administración periférica con una concentración de anticuerpo de entre 0,1 a 200 mg/ml; preferiblemente a aproximadamente, o entre 0,1 y alrededor de, cualquiera de 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 o 200 mg/ml +/- error de 10%, lo más preferiblemente al 50 mg/ml.

Según una realización adicional de la presente invención, el medicamento se prepara para administración periférica con una concentración de anticuerpo de entre 0,1 a 200 10 mg/kg de peso corporal; preferiblemente a aproximadamente, o entre 0,1 y alrededor de, cualquiera de 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 o 200 mg/kg de peso corporal 1 error del 10%, lo más preferiblemente a 10 mg/kg.

Según una realización preferida de la presente invención, el anticuerpo antagonista anti CGRP tiene una vida media in vivo de uno más que cualquiera de los 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208 o 210 días +/- 1 día, aún más preferiblemente más de cualquiera de 7, 8, 9, 10, 11, o 12 meses.

Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP tiene una vida media in vivo de más de 6 días.

De acuerdo con una realización preferida adicional de la presente invención, el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti CGRP no produce efectos de sistema nervioso central y/o deterioro cognitivo. Preferiblemente, el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti CGRP no induce ningún uno o más de los siguientes: amnesia, confusión, despersonalización, hipoestesia, pensamiento anormal, trismo, el vértigo, la acatisia, la apatía, ataxia, parestesia peribucal, estimulación del SNC, labilidad emocional, euforia, alucinaciones, hostilidad, hiperestesia, hiperquinesia, hipotonía, falta de coordinación, aumento de la libido, la reacción maniaca, mioclono, neuralgia, neuropatía, psicosis, convulsiones, habla anormal, estupor, ideación suicida; mareos, somnolencia, insomnio, ansiedad, temblores, depresión o parestesia. Más preferentemente, el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti CGRP no induce el deterioro de coordinación motor o de atención.

Según una realización adicional de la presente invención, el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti CGRP no produce insuficiencia respiratoria, renal o gastrointestinal.

Según una realización adicional de la presente invención, el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti CGRP no produce efectos de la dependencia física y/o psicológica. Preferiblemente, el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti CGRP no demuestra afinidad por los opiáceos, las benzodiazepinas, la fenciclidina (PCP), o receptores de ácido aspártico N-metil-D (NMDA), o estimulante del SNC, o producir cualquier sedante o efecto eufórico.

En una realización, el anticuerpo antagonista anti CGRP, en la administración, aminora, controles, reduce la incidencia de, o retrasa el desarrollo o la progresión de la sensación del dolor central.

- 5 En otra realización, el efecto del anticuerpo antagonista anti CGRP es igual y/o superior a los efectos de los AINE y/o opiáceos en los mismos modelos de dolor inflamatorio. En una realización, el anticuerpo antagonista contra el CGRP es eficaz en el tratamiento de poblaciones de dolor refractario.

10 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona el uso o método de acuerdo con cualquier otro aspecto de la invención en el que el anticuerpo antagonista anti CGRP se administra por separado, secuencial o simultáneamente en combinación con uno o más compuestos farmacológicamente o agentes activos, compuestos o agentes útiles para el tratamiento de dolor inflamatorio de preferencia. Preferiblemente, el agente adicional es seleccionado de uno o más de:

- 15 (i) un analgésico opiáceo, por ejemplo morfina, heroína, hidromorfona, oximorfona, levorfanol, levalorfanol, metadona, meperidina, fentanilo, cocaína, codeína, dihidrocodeína, oxycodona, hidrocodona, propoxifeno, nalbupheno, naloxona, naltrexona, buprenorfina, butorfanol, nalbufina o pentazocina; (ii) un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), por ejemplo, aspirina, diclofenaco, diflusal, etodolac, fenbufeno, fenopropeno, flufenisal, ibuprofeno, indometacina, quetoprofeno, quetorolaco, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, nabumetona, naproxeno, oxaprozina, fenilbutazona, piroxicam, sulindac, tolmetina o zomepirac, inhibidores de ciclooxigenasa-2 (COX-2), celecoxib, rofecoxib; meloxicam; JTE-522; L-745,337; NS398; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (iii) un sedante de barbiturato, por ejemplo, arnobarbital, aprobarbital, butabarbital, butabital, mefobarbital, metarbitol, metohexital, pentobarbital, phenobarbital, secobarbital, talbutal, teamilal o tiopental o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (iv) una berizodiazepina que tiene una acción sedante, por ejemplo, clordiazepóxido, clorazepato, diazepam, flurazepam, lorazepam, oxazepam, temazepam o triazolam o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (v) un antagonista de H1 que tiene una acción sedante, por ejemplo, difenhidramina, pirilamina, prometazina, clorfeniramina o clorciclizina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma; (vi) un sedante tal como glutetimida, meprobamato, metacualona o dicloralfenazona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (vii) un relajante de músculo esquelético, por ejemplo, baclofeno, carisoprodol, clorzoxazona, ciclobenzaprina, metocarbamol o orfenadina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma;
- 20 (viii) un antagonista del receptor NMDA, por ejemplo, dextrometorfano ((+)-3-hidroxi-N-metilmorfinano) o su metabolito dextrorfano ((+)-3-hidroxi-N-metilmorfinano), quetamina, memantina, quinona de pirroloquinolina o cis-4-(fosfonometil)-2-ácido de piperidinacarboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 25 (ix) un alfa-adrenérgico, por ejemplo, doxazosina, tamsulosina, clonidina o 4-amino-6,7-dimetoxi-2-(5-metanosulfonamido-1,2,3,4-tetrahidroisoquinol-2-il)-5-(2-piridil) quinazolina;
- 30 (x) un antidepresivo tricíclico, por ejemplo desipramina, imipramina, amitriptilina o nortriptilina;
- 35 (xi) un anticonvulsivo, por ejemplo, carbamazepina o valproato;
- 40 (xii) un antagonista de taquiquinina (NK), en particular un antagonista NK-3, NK-2 o NK-1, por ejemplo, (αR, 9R)-7-[3,5-bis(trifluorometil)bencilo]-8,9,10,11-tetrahidro-9-metil-5-(4-metilfenil)-7H-[1,4]diazocino[2,1-g][1,7]naftiridina-6-13-diona (TAK-637), 5-[[[(2R,3S)-2-[(1R)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etoxi-3-(4-fluorofenil)-4-morfolinilometilo]-1,2-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona (MK-869), lanepitant, dapitant o 3-[[[2-metoxi-5-(trifluorometoxi)-fenil]metiloamino]-2-fenil-piperidina (2S, 3S);
- 45 (xiii) un antagonista muscarínico, por ejemplo oxibutinina, tolterodina, propiverina, cloruro de tropisio o darifenacina; (xiv) un inhibidor de la COX-2, por ejemplo, celecoxib, rofecoxib o valdecoxib;
- 50 (xv) un inhibidor de COX no selectivo (preferiblemente con protección GI), por ejemplo, nitrofuribuprofen (HCT 1026);
- (xvi) un analgésico de alquitrán de hulla, en particular paracetamol;
- 55 (xvii) un neuroléptico tal como droperidol;
- (xviii) un agonista del receptor vainilloide (por ejemplo resiniferatoxina) o antagonista (por ejemplo capsazepina);
- (xix) un adrenérgico beta como propranolol;
- (xx) un anestésico local, tal como mexiletina;
- 60 (xxi) un corticosteroide, tal como dexametasona;
- (xxii) un agonista de receptor de serotonina o antagonista;
- (xxiii) una colinérgico (nicotínico) analgésico;
- (xxiv) El tramadol (marca registrada);
- (xxv) un inhibidor de PDEV, tales como sildenafil, vardenafil o taladafil;
- 65 (xxvi) un ligando alfa-2-delta tal como gabapentina o pregabalina;
- (xxvii) un cannabinoide; y
- (xxviii), un antidepresivo, como amitriptilina (Elavil), trazodona (Desyrel), y imipramina (Tofranil) o anticonvulsivos como fenitoína (Dilantin) o carbamazepina (Tegretol).

- 65 Según un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para la prevención y/o el tratamiento de dolor inflamatorio y/o síntomas de dolor inflamatorio o para mejorar, controlar,

reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión del dolor inflamatorio y/o los síntomas de dolor inflamatorio en un individuo, que comprende un anticuerpo antagonista anti CGRP y un vehículo farmacéuticamente aceptable y/o un excipiente, en donde la composición es preparada para ser administrada periféricamente .

5 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un kit que comprende:

- (a) una composición farmacéutica como se ha definido anteriormente; y
 (b) instrucciones para la administración periférica de una cantidad eficaz de dicha composición farmacéutica a un individuo para la prevención y/o tratamiento de dolor y/o síntomas de dolor inflamatorio o para mejorar, controlar, reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión del dolor inflamatorio y/o los síntomas de dolor inflamatorio.

El kit puede incluir uno o más recipientes que contienen un anticuerpo de antagonista anti CGRP o polipéptido descrito en este documento e instrucciones para su uso de acuerdo con cualquiera de los métodos y usos de la invención. El kit puede comprender además una descripción de selección de un individuo adecuado para el tratamiento basado en la identificación de si ese individuo tiene dolor inflamatorio o está en riesgo de tener dolor inflamatorio. Las instrucciones para la administración periférica de la composición farmacéutica puede incluir información en cuanto a la dosis, la pauta de dosificación y vías de administración para el tratamiento deseado.

Las características preferidas de cada aspecto de la invención se aplican por igual el uno al otro aspecto mutatis mutandis.

Ejemplos

La presente invención se describe ahora con referencia a los siguientes ejemplos que pretenden ilustrar pero no se limitan a la invención.

Los siguientes ejemplos y figuras se realizan con referencia a un anticuerpo G1, un anticuerpo monoclonal humano antihumano CGRP; y al anticuerpo G2, un anticuerpo monoclonal de ratón CGRP anti rata (Wong HG et al. hibridoma 12:93-106 (1993)).

Ejemplo 1: La osteoartritis (OA) modelos de dolor mecanicistas (transección del menisco medial (MMT))

Transección del menisco medial (MMT) en una rodilla posterior de los resultados de rata en el desarrollo de las lesiones del cartílago y otros cambios en la articulación similares a los que se producen en OA. El dolor en las articulaciones resultante conduce al desarrollo de cambios sostenidos en la carga de peso (evaluado usando un metro de incapacitación) en las extremidades traseras de rata y la alodinia mecánica (táctil) (evaluadas usando filamentos de von Frey), en la pata trasera, con una duración de varias semanas. Los estudios se llevaron a cabo de acuerdo a un protocolo ciego, en el que el investigador no estaba al tanto de la identidad del compuesto/control o el tratamiento del animal.

El anticuerpo G2 (un anticuerpo monoclonal anti CGRP) invirtió el déficit de carga de peso de la extremidad posterior OA a la dosis más alta probada, 10 mg/kg, IV. Su efecto fue comparable a celecoxib. Ambos compuestos invirtieron el cambio en la carga de peso sobre la extremidad OA al valor normal. No se observó efecto con la dosis más baja. Este efecto duró 10 días después de la administración cuando la exposición plasmática de anticuerpo G2 alcanza un valor medio de $65,1 \pm 3$ ug/ml ($6,3 \pm 0,3$ ug/ml, para la dosis más baja a los 10 días post IV).

El control negativo, anticuerpo nulo, es decir, no se une CGRP, (véase figura 1), demostró un efecto sobre la carga de peso en los puntos de tiempo tempranos. Este efecto fue inesperado y no se puede explicar, pero no se mantuvo y no se observó en los puntos finales de la alodinia (Figura 1). experimentos repetidos en las mismas condiciones utilizando un tampón como control negativo no mostraron ningún efecto sobre la carga de peso para el control negativo y revirtieron el cambio en carga de peso sobre la extremidad OA del valor normal para G1.

Ejemplo 2: Ensayo de unión

Un ensayo de unión se realizó para medir el IC_{50} del anticuerpo anti CGRP G2 y G1 en el bloqueo de una CGRP humana a partir de la unión al receptor CGRP1 en las células SK-N-MC. Las curvas de respuesta de dosis se representaron gráficamente y valores de K se determinaron utilizando la ecuación:

$K_i = IC_{50} / (1 + ([ligand]/K_D))$; Figura 2, donde el equilibrio constante de disociación $K_D = 0,37$ nM para α -CGRP al CGRP1 - receptor como presente en las células SK-N-MC. El valor IC_{50} informado (en términos de moléculas de IgG) fue convertido a los sitios de unión para que se podría comparar con las afinidades (K_D) determinados por Biacore utilizando N-biotinilado humano y de rata α -CGRPs fueron capturados en las células de flujo individuales a niveles bajos (típicamente 100 unidades de respuesta) para proporcionar las superficies de reacción, mientras que una celda de flujo no modificada sirvió como canal de referencia. G1 se valoró sobre la superficie del chip. Las afinidades de unión se dedujeron a partir del cociente de las constantes cinéticas ($K_D = K_{off}/K_{on}$) véase Tabla 1.

	G2	Ratón Mab 7E9	G1
KD (nM), α -Hu	17	1,0	0,04
1C50 (nM) α -Hu	37	2,6	1,2
KD (nM) α -Rata	1,0	58	1,2

Tabla 1

N-biotIn-CGRP en chip	°C	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	$T_{1/2}$ (h)	K_D (nM)
α -humano	25	$1,86 \times 10^5$	$7,80 \times 10^{-6}$	24,68	0,042
α -humano	37	$5,87 \times 10^5$	$3,63 \times 10^{-5}$	5,30	0,063
β -humano	37	$4,51 \times 10^5$	$6,98 \times 10^{-5}$	2,76	0,155
α -rata	25	$5,08 \times 10^4$	$6,18 \times 10^{-5}$	3,12	1,22
α -rata	37	$1,55 \times 10^5$	$3,99 \times 10^{-4}$	0,48	2,57
β -rata	37	$5,16 \times 10^5$	$7,85 \times 10^{-5}$	2,45	0,152

Tabla 2

Afinidad de unión G1 para CGRP humano α y β era equivalente ($K_D=0,155$ y $0,152$ nM, respectivamente). Afinidad de unión de G2 para CGRP rata α y β era equivalente (16 y 17 nM, respectivamente). Además, afinidad de unión G1 es 40 veces más potente en humanos que en ratas para α -CGRP ($K_D = 0,042$ y $1,22$ nM, respectivamente) y equipotente en humanos y ratas para el β -CGRP ($K_D=0,155$ y $0,152$ nM, respectivamente). También, el anticuerpo G1 demostró una buena selectividad de especies transversal y se une a una rata α -CGRP con la misma afinidad que el anticuerpo G2 (alrededor de $1,2$ nM) Tabla 2.

G1 une α - y β -CGRP humana y mono cynomolgus con alta afinidad ($K_D=63$ y 155 pM, respectivamente). G1 muestra la selectividad de especies para CGRP humano/cino y se une a α - y β -CGRP de otras especies por ejemplo, rata con menor afinidad ($K_D=2.57$ nM y 152 pM, respectivamente).

Ejemplo 3: La vida media de anti-CGRP in vivo

Mediciones de suero de anticuerpos anti CGRP, en la rata, la Figura 3, indica que la vida media es del orden de 7 días. El anticuerpo es periféricamente restringido que tiene un peso molecular de alrededor de 150.000, las Figuras 3a, 3b, es decir, que no cruza en el sistema nervioso central o cruza la barrera de sangre del cerebro.

Ejemplo 4: La selectividad del anticuerpo anti CGRP

Se determinó la especificidad del anticuerpo G1 a CGRP humano o de rata mediante el uso del chip Biacore para "sondear" la concentración libre de un complejo péptido premezclado de mAb + péptido. Como era de esperar, cuando preincubamos el anticuerpo G1 con CGRP humano o de rata la respuesta era totalmente bloqueado. En contraste G1 preincubado, con un exceso de amilina, calcitonina o adrenomedulina era comparable a la respuesta de control (G1 más tampón) lo que demuestra que G1 no forma un complejo con estos péptidos (Figura 5).

Ejemplo 5: Identificación de anticuerpo G1 epítipo de unión

El análisis de interacción se lleva a cabo a 25°C en un sistema Biacore 3000TM equipado con chips de sensor recubiertos de estreptavidina (SA) (Biacore AB, Uppsala, Suecia) usando un tampón de funcionamiento estándar Biacore (HBS-P). En primer lugar se confirmó que un fragmento N-biotinilado 25-37 humano α -CGRP unido con la misma afinidad al anticuerpo G1, como la longitud total N-biotinilada humana α -CGRP. Cada aminoácido entre la posición 27-37 después se mutó individualmente a alanina y expresó la pérdida de veces en la afinidad en comparación con el fragmento de tipo salvaje. Fragmentos N-biotinilados fueron capturados en las células de flujo individuales a niveles bajos (típicamente 100 unidades de respuesta) para proporcionar las superficies de reacción, mientras que una celda de flujo sin modificar sirvió como un canal de referencia. Los fragmentos Fab purificados de anticuerpo G1 se generaron. Los fragmentos Fab se titularon sobre el chip usando $1\mu\text{M}$ como la concentración superior de series de dilución de dos veces. Fases de asociación y disociación fueron monitorizadas a $100\mu\text{l/min}$ para 1 minuto y 5 minutos, respectivamente. Las superficies se regeneró con una mezcla de 35% de etanol + 25 mM NaOH + $0,5\text{ M}$ de NaCl.

Los resultados del análisis de alanina muestran que el anticuerpo G1 se une a la región terminal C de α -CGRP humana, en particular los residuos 25 a 37, y muestra la unión específica a una región (es decir, la pérdida de afinidad se aumentó notablemente cuando se muta la región de unión específica) que se puede definir como el epítipo y que se encuentra dentro de los últimos 5 C- aminoácidos terminales, es decir, de G33A a F37A. Cambios más profundos en la afinidad son causados por la mutación G33A y F37A (Figura 4). C-terminal Phe es importante para la selectividad de anticuerpo G1 para CGRP vs péptidos relacionados y miembros de la familia de genes (Figura 6).

Por lo tanto, en una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo antagonista anti CGRP que se une específicamente a un epítipo definido por los aminoácidos G33 a F37 de CGRP. El anticuerpo antagonista anti CGRP puede unirse específicamente al epítipo definido por la secuencia de aminoácidos GSKAF, más específicamente al epítipo de CGRP se define como GXXXF donde X puede ser cualquier aminoácido, el G33 y F37 siendo los residuos más importantes del epítipo para la definición de la unión del anticuerpo antagonista anti CGRP de alta afinidad.

Ejemplo 6: Análisis de los indicadores de dependencia física o psicológica

Ni anticuerpo G1 ni anticuerpo G2 demuestran penetración en el SNC. Además, la observación a largo plazo de los animales (ratas) dosificaron con el anticuerpo a los niveles utilizados en los ejemplos anteriores no revelaron eventos adversos del SNC tales como la sedación o la estimulación/comportamiento eufórico en comparación con los animales control. Estas observaciones indican la ausencia de riesgo de dependencia para los anticuerpos y por lo tanto una mejora significativa de la seguridad de los anticuerpos sobre los opiáceos actuales utilizados en terapias para el dolor actuales.

Ejemplo 7: Análisis de los indicadores de los efectos adversos gastrointestinales

10 A 1 meses estudio en ratas in vivo con G2 anticuerpo y estudio comparativo 1 semana con Anticuerpo G1 en demostró que no se observaron efectos gastrointestinales adversos en el comportamiento, ingesta de alimentos, la producción de heces o la histopatología en comparación con los animales control. Estas observaciones indican la ausencia de riesgo gastrointestinal para los anticuerpos y por lo tanto una mejora significativamente la seguridad de los anticuerpos sobre corriente

15 AINE utilizados en terapias para el dolor actuales.

Ejemplo 8: G1 y G2 como anticuerpos antagonistas contra CGRP

Una consecuencia de la actividad biológica conocida CGRP es la llamada neurogénica de generación cuando se entrega in vivo. G1 y G2 demuestran ser anticuerpos antagonista anti CGRP en que impiden el desarrollo de llamada neurogénica in vivo.

Al usar de un modelo de rata de llamada de piel neurogénica, la eficacia de G1 fue probada por su capacidad para bloquear el efecto de CGRP in vivo. El nervio safeno en la rata se estimula eléctricamente, causando la liberación de CGRP de las terminaciones nerviosas y que conduce a la vasodilatación, los cambios resultantes en el flujo de sangre se pueden medir usando métodos de láser Doppler.

Los cambios en los parámetros de flujo de sangre se expresaron como el área bajo la curva (AUC, el cambio en unidades de flujo Doppler arbitrarias multiplicadas por el tiempo). CGRP antagonista de receptor CGRP₈₋₃₇ (400 nmol/kg, i.v.) se utilizó como control positivo para validar la especificidad del modelo (datos no mostrados). Para determinar el efecto de G1 antes de la dosificación para cada animal, la respuesta del flujo de sangre de referencia a la estimulación se estableció con dos estimulaciones del nervio safeno cada 30 minutos de diferencia. Las ratas fueron tratadas con G1 después de la respuesta del flujo sanguíneo de la segunda estimulación había regresado a los niveles basales (aproximadamente 10 minutos después de la estimulación) se realizaron y las otros cuatro estimulaciones adicionales en intervalos de 30 minutos.

Resultados (Figura 7) demostraron que en animales tratados con vehículo no se registró ningún cambio significativo en la respuesta del flujo sanguíneo, pero las ratas tratadas con G1 mostraron una disminución significativa en la respuesta de flujo sanguínea a partir de los 90 y 120 minutos después de la dosis de 10 mg/kg y 1 mg/kg, respectivamente. Actividad similar se logró utilizando D2. Además, en llamadas adicionales neurogénicas y pruebas de modelo de vasodilatación G1 mostraron efecto marcado a los 7 días después de la dosificación intravenosa (ED₅₀ predicho = 6 ug/ml en el modelo de la estimulación del nervio safeno). Las conclusiones forman las pruebas realizadas es que G1 y G2 demuestran actividad antagonista anti CGRP.

Capacidad similar de función bloqueada CGRP para los anticuerpos también se muestra en la publicación Zeller J, et. al. Br J Pharmacol. 2008 Dec;155(7):1093-103. Epub 2008 Sep 8.

5 A continuación se dan las secuencias de anticuerpos útiles para la práctica de la presente invención.

Secuencias de anticuerpos

Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada de Anticuerpo G1 (SEQ ID NO:1)

10 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWISWVRQAPGKGLEWVAEIRSESDASATHYAEAVKGRFTISRDN
AKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCLAYFDYG LAIQNYWGQGLTVTVSS

Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de Anticuerpo G1 (SEQ ID NO:2)

15 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASKRVTTYVSWYQQKPGQAPRLLIYGASNRYLGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE
PEDFAVYYCSQSYNYPYTFGQGTKLEIK

Anticuerpo G1 CDR H1 (CDR extendido) (SEQ ID NO: 3)

20 GFTFSNWIS

Anticuerpo G1 CDR H2 (CDR extendido) (SEQ ID NO: 4)

25 EIRSESDASATHYAEAVKG

Anticuerpo G1 CDR H3 (SEQ ID NO: 5)

YFDYGLAIQNY

Anticuerpo G1 CDR L1 (SEQ ID NO: 6)

30 KASKRVTTYVS

Anticuerpo G1 CDR L2 (SEQ ID NO: 7)

35 GASNRYL

Anticuerpo G1 CDR L3 (SEQ ID NO: 8)

40 SQSYNYPYT

Secuencia de nucleótidos de región variable de cadena pesada de anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 9)

45 GAAGTTCAGCTGGTTGAATCCGGTGGTGGTCTGGTTCAGCCAGGTGGTTCCTGCGTCTGTCCTGCGCTGCTTC
CGGmCAcCUCTCCPCTACTGGATCTCCTGGGTTCTGTCAGGCTCCTGGTAAAGGTCTGGAATGGGTTGCTGAAAT
CCGUCCGAAATCCGACGCTCCGCTACCCATTACGCTGAAGCTGTTAAAGGTGCG1TCACCATCTCCCGTGACAA
CGCTAAGAAGTCCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGTGTCTGAAGACACCGCTGTTTACTACTGCCTGGCTA
CTTGACTACGGTCTGGCTATCCAGAAGTACTGGGGTCAGGGTACCCTGGTTACCGTTTCTCTCC

Secuencia de nucleótidos de región variable de cadena ligera de anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 10)

50 GAAATCGTTCTGACCCAGTCCCCGGCTACCCTGTCCCTGTCCCCAGGTGAACGTGCTACCCTGTCCTGCAAAGC
TTCAAACGGGTTACCACCTACGTTTCTGGTACCAGCAGAAACCCGGTACGGCTCCTCGTCTGCTGATCTACG
GTGCUCCAACCGACCTCGGTATCCAGCTCGTTTCTCCGGTCCGGTCCGGTACCGACTTCACCCTGACCATC
TCCTCCCTGGAACCCGAAGACTTCGCTG1TrACTACTGCAGTCAGTCCTACAAGTACCCTACACCTTCGGTCAG
GGTACCAAACCTGAAATCAAA

Secuencia de aminoácidos de cadena pesada de anticuerpo completo de anticuerpo G1 (incluido IgG2 modificado como se describe en el presente documento) (SEQ ID NO: 11)

60 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNVWISWVRQAPGKGLEWVAEIRSESDASATHYAEAVKGRFTISRDN
AKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCLAYFDYGLAIQNWVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPP
CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVL
TVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

Secuencia de aminoácidos de cadena ligera de anticuerpo completo de anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 12)

65 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASKRVTTYVSWYQQKPGQAPRUJYGASNRYLGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE

PEDFAVYYCSQSYNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASWCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Secuencia de nucleótidos de cadena pesada de anticuerpo completo de anticuerpo G1 (incluido IgG2 modificado como se describe en el presente documento) (SEQ ID NO: 13)

5 GAAGUCAGCTGGTTGAATCCGGTGGTGGTCTGGTTCAGCCAGGTGGTTCCTGCGTCTGTCCTGCGCTGC1TC
CGGmCACCTTCCAAGTACTGGATCTCCTGGGTTTCGTCAGGCTCCTGGTAAAGGTCTGGAATGGGTTGCTGAA
ATCCGTTCCGAATCCGACGCGTCCGCTACCCATTACGCTGAAGCTGTTAAAGGTGCG1TTCACCATCTCCCGTGA
CAACGCTAAGAACTCCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGTGTGAAGACACCGCTGTTTACTACTGCCTGG
10 CTTACTTTGACTACGGTCTGGCTATCCAGAAGTACTGGGGTACGGGTACCCTGGTACCCTGTTCCCTCCGCTCCA
CCAAGGGCCCATCTGTCTTCCCACTGGCCCCATGCTCCCGCAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGG
GCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAACCTGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGG
CGTCTGACCGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTGCAGTCCCTCAGGTCTCTACTCCCTCAGCAGCGTG
15 GTGCGACAAGACCGTGGAGAGAAAAGTGTGTGGAGTGTCCACCTTGTCCAGCCCCTCCAGTGGCCGGACCAT
CCCTGTTCCCTGUCCCTCCAAAGCC/AAGGACACCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACCTGTGTGGTGG
TGGACGTGTCCACGAGGACCCAGAGGTGCAGTTCAACTGGTATGTGGACGGAGTGGAGGTGCACAACGCCAA
GACCAAGCCAAGAGAGGAGCAGTTCAACTCCACCTTCAGAGTGGTGGAGCGTGTGACCGTGGTGCACCAGGAC
20 TGGCTGAACGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGTCCAACAAGGGACTGCCATCCAGCATCGAGAAGACCATCTC
CAAGACCAAGGGACAGCCAAGAGAGCCACAGGTGTATACCCTGCCCCATCCAGAGAGGAGATGACCAAGAAC
CAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGMGGGAUCTATCCATCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAG
CCAGAGAACAATAAGACCACCCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGATCCTTCCCTGTATTCCAAGCTGACCG
TGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGAAACGTG1TCTCTTGUCCTGTATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTATA
25 CCCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCAGGAAAGTA

Secuencia de nucleótidos de cadena ligera de anticuerpo completo de anticuerpo G1 (SEC ID NO:14)

5 GAAATCGTTCTGACCCAGTCCCGGCTACCCTGTCCCTGTCCCCAGGTGAACGTGCTACCCTGTCCCTGCAAAGC
TTCCAAACGGGTrACCACCTACG1TrCCTGGTACCAGCAGAAAACCCGGTCAGGTCCTCGTCTGATCTACGG
TGCTTCCAACCGTTACCTCGGTATCCCAGCTCGTTTCTCCGGTCCCGTACCAGACTTACCCTGACCAT
30 CTCCTCCCTGGAACCCGAAGACTTCGCTGTTTACTACTGCAGTCACTTACAACCTACCCTACACCTTCGGTCA
GGGTACCAAACCTGGAATCAAACGCACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCCTCCATCTGATGAGCAGTT
GAAATCCGGAACCTGCCTCTGTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCGCGCGAGGCGAAAGTACAGTGGAAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCCGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG
35 CCTCAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAACCATC
AGGGCCTGAGTTCTCCAGTCAAAAAGAGCTTCAACCGCGGTGAGTGCTAA

Comparación de secuencias de aminoácido de CGRP humano y de rata (α -CGRP humano (SEQ ID NO: 15); β -CGRP humano (SEQ ID NO:16); rata α -CGRP (SEQ ID NO: 17); y la rata β -CGRP (SEQ ID NO : 18)):

40 NH₂-ACDSTATGVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSKAF-CONH₂ (SEQ ID NO:15)
NH₂-ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSDFVPTNVGSKAF-CONH₂ (SEQ ID NO:16)
NH₂-SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSEAF-CONH₂ (SEQ ID NO:17)
NH₂-SCHTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSKAF CONH₂ (SEQ ID NO:18)

Secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada de anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 19)

45 EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYFTSSVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSKSS
STAYMELSSLTSEDSAVYYCAKGGNDGYWGQGTTLTVSS

Secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera de anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 20)

50 EIVLTQSPPTMAASPGEKITTCSASSISSIYLHWYQQKPGFSPKVLIRASNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTIGTME
AEDVATYYCQQGSTIPFTFGSGTKLEIK

Anticuerpo G2 CDR H1 (CDR extendido (SEQ ID NO: 21)

SSVMH

55 Anticuerpo G2 CDR H2 (CDR extendido (SEQ ID NO: 22)

YINPYNDGTYNEKFKG

Anticuerpo G2 CDR H3 (SEQ ID NO: 23)

GGNDGY

60 Anticuerpo G2 CDR L1 (SEQ ID NO: 24)

SASSISSIYLH

Anticuerpo G2 CDR L2 (SEQ ID NO: 25)

65 RASNLAS

Anticuerpo G2 CDR L3 (SEQ ID NO: 26)
QGGSTIPFT

5 Secuencia de nucleótidos de variable región de cadena pesada del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 27)
GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGC1TCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTT
CTGGATACACA1TCACTAGCTCTGUATGCACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGGA1TGGAT
ATATTAATCC1TACAATGATGGTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAGACAAATC
CTCCAGCACAGCCTACATGGAAGTCAAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAAAGGGG
GTAACGATGGCTACTGGGGCAAGGCACTACTCTCACAGTCTCCTCA

10 Secuencia de nucleótidos de variable región de cadena ligera del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 28)
GAAATTGTGCTCACGCAGTCTCCAACCACCATGGCTGCATCTCCCGGGGAGAAGATCACTATCACCTGTAGTGC
CAGCTCAAGTATAAGTTCCATTTACTTGCATTGGTATCAGCAGAAGCCAGGATTCTCCCCTAAAGTCTTGATTTAT
AGGGCATCCAATCTGGCTTCTGGAGTCCCAGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACTTACTCTCTCAC
15 AATTGGCACCATGGAGGCTGAAGATGTTGCCACUACTACTGCCAGCAGGGTAGTACTATAACCATCACGTTCCGGC
TCGGGGACAAAGTTGGAATAAAA

20 Secuencia de aminoácidos de cadena pesada del anticuerpo completo de anticuerpo G2 (no incluyendo dominio Fc)
(SEQ ID NO: 29)
EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYFTTSSVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSKSS
STAYMELSSLTSEDSAVYYCAKGGNDGYWQGTTLVSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQNSMVTGLCLVKGYFPEPV
TVTWNSSGLSSGVHFTFPAVLQSDLYTLSSSVTPVPSSTWVPSSETVTCNVAHPASSTKVDDKIVPRD

25 Secuencia de aminoácidos de cadena ligera del anticuerpo completo de anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 30)
EIVLTQSPPTMAASPGEKITITCSASSISSIYLHWYQKQKPGFSPKVLIRASNLASGVPARFSPSEQSGSGSSTSYSLT
IGTMEAEDVATYYCQQGSTIPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASWCFLLNPFYPRDINVKWKIDGSE
RQNGVLNSWTDQSDKSTYSMSSTLTLKDEYERHNSYTCEATHKSTSPIVKSFNRNEC

30 Secuencia de aminoácidos de cadena pesada del anticuerpo completo de anticuerpo G2 (dominio Fc no incluido)
(SEQ ID NO: 31)
GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTT
CTGGATACACAUCACTAGCTCTGTTATGCACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGAT
ATATTAATCC1TACAATGATGGTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAMGGCAAGGCCACACTGACUCAGACAAATCC
35 TCCAGCACAGCCTACATGGAAGTCAAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAAAGGGGG
TAACGATGGCTACTGGGGCCAAGGCACTACTCTCAGAGTCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCATCTGTCTATC
CACTGGCCCCTGGATCTGCTGCCAAACTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCCT
GAGCCAGTGACAGTGACCTGGAAGTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTCCCAGCTGTCTCTGCAGT
CTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCTCCAGCACCTGGCCCAGCGAGACCGTCACCTGCAA
40 CGTTGCCACCCCGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGA AAATTGTGCCAGGGAT

45 Secuencia de aminoácidos de cadena ligera del anticuerpo completo de anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 32)
GAAATTGTGCTCACCCAGTCTCCAACCACCATGGCTGCATCTCCCGGGGAGAAGATCACTATCACCTGTAGTGC
CAGCTCAAGTATAAGTTCCATTTACTTGCATTGGTATCAGCAGAAGCCAGGATTCTCCCCTAAAGTCTTGATTTAT
AGGGCATCCAATCTGGCTTCTGGAGTCCCAGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTACTCTCTCAC
AATTGGCACCATGGAGGCTGAAGATGTTGCCACTTACTACTGCCAGCAGGGTAGTACTATAACATTCACGTCGG
CTCGGGGACAAAGTTGGAATAAAACGGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGC
AGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACCTTACCCAGAGACATCAATGTCAAGTGA
50 AGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGTGTCTTGAACAAGTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTAC
AGCATGAGCAGCACCTCACATTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCA
CAAGACATCAACUCACCCATCGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTA

55

60

65

LISTA DE SECUENCIAS

5 <110> Pfizer limited
 Poulson, Kristian T
 Shelton, David L
 Zeller, Joerg
 Machin, Ian
 Corradini, Laura

10 <120> Métodos para el tratamiento del dolor Inflamatorio
 <130> PC33700A

15 <150> US 61/033,568
 <151> 2008-03-04
 <160> 32
 <170> PatentIn version 3.3

20 <210> 1
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Artificial

25 <400> 1
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Glu Ile Arg Ser Glu Ser Asp Ala Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60
 Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Leu Ala Tyr Phe Asp Tyr Gly Leu Ala Ile Gln Asn Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

55 <210> 2
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial

60 <400> 2
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Lys Arg Val Thr Thr Tyr

5 20 25 30
 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 10 Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Leu Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 15 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 20 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 25 <210> 3
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <400> 3
 30 Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Ile Ser
 1 5 10
 35 <210> 4
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <400> 4
 40 Glu Ile Arg Ser Glu Ser Asp Ala Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu Ala
 1 5 10 15
 45 Val Lys Gly
 50 <210> 5
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <400> 5
 55 Tyr Phe Asp Tyr Gly Leu Ala Ile Gln Asn Tyr
 1 5 10
 60 <210> 6
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <400> 6
 65 Lys Ala Ser Lys Arg Val Thr Thr Tyr Val Ser
 1 5 10

```

5
  <210> 7
  <211> 7
  <212> PRT
  <213> Artificial
  <400> 7
  Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Leu
  1 5

10
  <210> 8
  <211> 9
  <212> PRT
  <213> Artificial
  <400> 8
  Ser Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr Thr
  1 5

20
  <210> 9
  <211> 366
  <212> DNA
  <213> Artificial
  <400> 9
25
  gaagttcagc tggttgaatc cggtggtggt ctggttcagc caggtggttc cctgcgctcg 60
  tcctgcgctg cttccggttt caccttctcc aactactgga tctcctgggt tcgtcaggct 120
  cctggtaaag gtctggaatg ggttgctgaa atccgttccg aatccgacgc gtccgctacc 180
30
  cattacgctg aagctgttaa aggtcgtttc accatctccc gtgacaacgc taagaactcc 240
  ctgtacctgc agatgaactc cctgcgtgct gaagacaccg ctgtttacta ctgcctggct 300
  tactttgact acggctctggc tatccagaac tactggggtc agggttaccct ggttaccggt 360
35
  tcctcc 366

40
  <210> 10
  <211> 321
  <212> DNA
  <213> Artificial
  <400> 10
  gaaatcgttc tgaccagtc cccggctacc ctgtccctgt ccccagggtga acgtgctacc 60
  ctgtcctgca aagcttccaa acggggttacc acctacgttt cctggtacca gcagaaacc 120
45
  ggtcaggctc ctgctctgct gatctacggt gtttccaacc gttacctcggt tatcccagct 180
  cgtttctccg gttccgggtc cggtagcgac ttcacctga ceatctctc cctggaacc 240
  gaagacttcg ctgtttacta ctgcagtcag tctacaact accctacac cttcggtcag 300
50
  ggtaccaaac tggaaatcaa a 321

55
  <210> 11
  <211> 448
  <212> PRT
  <213> Artificial
  <400> 11
  Glu val Gln Leu val Glu Ser Gly Gly Gly Leu val Gln Pro Gly Gly
  1 5 10 15
60
65

```

ES 2 584 907 T3

5 Ser Leu Arg Leu₂₀ Ser Cys Ala Ala Ser₂₅ Gly Phe Thr Phe Ser₃₀ Asn Tyr

Trp Ile Ser₃₅ Trp Val Arg Gln Ala₄₀ Pro Gly Lys Gly₄₅ Leu Glu Trp Val

10 Ala Glu₅₀ Ile Arg Ser Glu Ser₅₅ Asp Ala Ser Ala Thr₆₀ His Tyr Ala Glu

15 Ala Val Lys Gly Arg Phe₇₀ Thr Ile Ser Arg Asp₇₅ Asn Ala Lys Asn Ser₈₀

20 Leu Tyr Leu Gln Met₈₅ Asn Ser Leu Arg Ala₉₀ Glu Asp Thr Ala Val₉₅ Tyr

Tyr Cys Leu Ala₁₀₀ Tyr Phe Asp Tyr Gly₁₀₅ Leu Ala Ile Gln Asn₁₁₀ Tyr Trp

25 Gly Gln Gly₁₁₅ Thr Leu Val Thr Val₁₂₀ Ser Ser Ala Ser Thr₁₂₅ Lys Gly Pro

30 Ser Val₁₃₀ Phe Pro Leu Ala Pro₁₃₅ Cys Ser Arg Ser Thr₁₄₀ Ser Glu Ser Thr

35 Ala Ala Leu Gly Cys Leu₁₅₀ Val Lys Asp Tyr Phe₁₅₅ Pro Glu Pro Val Thr₁₆₀

Val Ser Trp Asn Ser₁₆₅ Gly Ala Leu Thr Ser₁₇₀ Gly Val His Thr Phe₁₇₅ Pro

40 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr₁₈₅ Ser Leu Ser Ser Val₁₉₀ Val Thr

45 Val Pro Ser₁₉₅ Ser Asn Phe Gly Thr₂₀₀ Gln Thr Tyr Thr Cys₂₀₅ Asn Val Asp

50 His Lys₂₁₀ Pro Ser Asn Thr Lys₂₁₅ Val Asp Lys Thr Val₂₂₀ Glu Arg Lys Cys

Cys Val Glu Cys Pro Pro₂₃₀ Cys Pro Ala Pro Pro₂₃₅ Val Ala Gly Pro Ser₂₄₀

55 Val Phe Leu Phe Pro₂₄₅ Pro Lys Pro Lys Asp₂₅₀ Thr Leu Met Ile Ser₂₅₅ Arg

60 Thr Pro Glu Val₂₆₀ Thr Cys Val Val Val₂₆₅ Asp Val Ser His Glu₂₇₀ Asp Pro

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val₂₈₀ Asp Gly Val Glu Val₂₈₅ His Asn Ala

65 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val

ES 2 584 907 T3

290 295 300

5 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

10 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

15 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

20 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

25 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

30 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
385 390 395 400

35 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

40 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

45 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 12
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 12

45 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

50 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Lys Arg Val Thr Thr Tyr
20 25 30

55 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

60 Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Leu Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

65 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

70 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
85 90 95

75 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

ES 2 584 907 T3

5
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 10 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 15 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 20 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 25 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 30 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 35 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

30 <210> 13
 <211> 1347
 <212> DNA
 <213> Artificial
 35 <400> 13
 gaagttcagc tggttgaatc cgggtggtggt ctggttcagc caggtggttc cctgcgtctg 60
 tcctgcgctg cttccggtt caccttctcc aactactgga tctcctgggt tcgtcaggct 120
 cctggtaaag gtctggaatg ggttgctgaa atccgttccg aatccgacgc gtccgctacc 180
 40 cattacgctg aagctgttaa aggtcgttc accatctccc gtgacaacgc taagaactcc 240
 ctgtacctgc agatgaactc cctgcgtgct gaagacaccg ctgtttacta ctgcctggct 300
 tactttgact acggctctggc tatccagaac tactggggtc agggtagcct ggttaccggt 360
 45 tcctccgcct ccaccaaggg cccatctgtc ttcccactgg ccccatgctc ccgcagcacc 420
 tccgagagca cagccgccct gggctgcctg gtcaaggact acttcccaga acctgtgacc 480
 gtgtcctgga actctggcgc tctgaccagc ggcgtgcaca cttcccagc tgtcctgcag 540
 50 tcctcaggtc tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc catccagcaa cttcggcacc 600
 cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag ccaagcaaca ccaaggtcga caagaccgtg 660
 gagagaaagt gttgtgtgga gtgtccacct tgtccagccc ctccagtggc cggaccatcc 720
 55 gtgttcctgt tccctcaaaa gccaaaggac accctgatga tctccagaac cccagaggtg 780
 acctgtgtgg tgggtggacgt gtcccacgag gaccagagg tgcagttcaa ctggtatgtg 840
 gacggagtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagccaagag aggagcagtt caactccacc 900
 60 ttcagagtgg tgagcgtgct gaccgtggtg caccaggact ggctgaacgg aaaggagtat 960
 aagtgtaagg tgtccaacaa gggactgcca tccagcatcg agaagaccat ctccaagacc 1020

65

ES 2 584 907 T3

5 aagggacagc caagagagcc acaggtgtat accctgcccc catccagaga ggagatgacc 1080
 aagaaccagg tgtccctgac ctgtctgggtg aagggattct atccatccga catcgccgtg 1140
 gagtgggagt ccaacggaca gccagagaac aactataaga ccaccctcc aatgctggac 1200
 tccgacggat ccttcttctt gtattccaag ctgaccgtgg acaagtccag atggcagcag 1260
 10 ggaaacgtgt tctcttgttc cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta taccagaag 1320
 agcctgtccc tgtctccagg aaagtaa 1347

15 <210> 14
 <211> 645
 <212> DNA
 <213> Artificial

20 <400> 14
 gaaatcgttc tgaccagtc cccggctacc ctgtccctgt ccccagggtga acgtgctacc 60
 ctgtcctgca aagcttcaa acgggttacc acctacgttt cctggtacca gcagaaacct 120
 ggtcaggctc ctgctctgct gatctacggt gttccaacc gttacctcg tatcccagct 180
 25 cgtttctccg gttccggttc cggtagcgac ttcacctga ccatctctc cctggaacct 240
 gaagacttcg ctgtttacta ctgcagtcag tcctacaact accctacac cttcggtcag 300
 ggtaccaaac tggaaatcaa acgcaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttccctcca 360
 30 tctgatgagc agttgaaatc cggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
 ccgcgcgagg ccaagtaca gtggaagggtg gataacgcc tccaatccgg taactcccag 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacc 540
 35 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
 ctgagttctc cagtcacaaa gagcttcaac cgcggtgagt gctaa 645

40 <210> 15
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Human

45 <400> 15
 Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
 1 5 10 15
 Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 50 Gly Ser Lys Ala Phe
 35

55 <210> 16
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Human

60 <400> 16
 Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
 1 5 10 15

65

5 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe
 35

10 <210> 17
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Rat

15 <400> 17

20 Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
 1 5 10 15

25 Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asp Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
 20 25 30

30 Gly Ser Glu Ala Phe
 35

35 <210> 18
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> rat

40 <400> 18

45 Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
 1 5 10 15

50 Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asp Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
 20 25 30

55 Gly Ser Lys Ala Phe
 35

60 <210> 19
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Artificial

65 <400> 19

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

70 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

75 Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

80 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

85 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 33

ES 2 584 907 T3

	65				70					75				80		
5	Met	Glu	Leu	Ser	Ser ₈₅	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp ₉₀	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr ₉₅	Cys
10	Ala	Lys	Gly	Gly ₁₀₀	Asn	Asp	Gly	Tyr	Trp ₁₀₅	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr ₁₁₀	Leu	Thr
15	Val	Ser	Ser ₁₁₅													
	<210>	20														
	<211>	108														
	<212>	PRT														
	<213>	Artifical														
20	<400>	20														
25	Glu	Ile	Val	Leu	Thr ₅	Gln	Ser	Pro	Thr	Thr ₁₀	Met	Ala	Ala	Ser	Pro	Gly ₁₅
30	Glu	Lys	Ile	Thr ₂₀	Ile	Thr	Cys	Ser	Ala ₂₅	Ser	Ser	Ser	Ile	Ser ₃₀	Ser	Ile
35	Tyr	Leu	His ₃₅	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys ₄₀	Pro	Gly	Phe	Ser	Pro ₄₅	Lys	Val	Leu
40	Ile	Tyr ₅₀	Arg	Ala	Ser	Asn	Leu ₅₅	Ala	Ser	Gly	Val	Pro ₆₀	Ala	Arg	Phe	Ser
45	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr ₇₀	Ser	Tyr	Ser	Leu	Thr ₇₅	Ile	Gly	Thr	Met	Glu ₈₀
50	Ala	Glu	Asp	Val	Ala ₈₅	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln ₉₀	Gln	Gly	Ser	Thr	Ile ₉₅	Pro
55	Phe	Thr	Phe	Gly ₁₀₀	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu ₁₀₅	Glu	Ile	Lys				
	<210>	21														
	<211>	5														
	<212>	PRT														
	<213>	Artifical														
	<400>	21														
60	Ser	Ser	Val	Met	His ₅											
	<210>	22														
	<211>	17														
	<212>	PRT														
	<213>	Artifical														
	<400>	22														
65	Tyr	Ile	Asn	Pro	Tyr ₅	Asn	Asp	Gly	Thr	Lys ₁₀	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys ₁₅

Gly

5

<210> 23
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<400> 23

Gly Gly Asn Asp Gly Tyr
 1 5

15

<210> 24
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<400> 24

Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ile Tyr Leu His
 1 5 10

25

<210> 25
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<400> 25

Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5

35

<210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<400> 26

Gln Gln Gly Ser Thr Ile Pro Phe Thr
 1 5

45

<210> 27
 <211> 345
 <212> DNA
 <213> Artificial

<400> 27

gagggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg	60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact agctctgtta tgcactgggt gaagcagaag	120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaagtac	180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac	240
atggaactca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggctt attactgtgc aaaagggggt	300
aacgatggct actggggcca aggactact ctcacagtct cctca	345

60

<210> 28
 <211> 324
 <212> DNA

65

ES 2 584 907 T3

<213> Artificial

5 <400> 28
gaaattgtgc tcaccagtc tccaaccacc atggctgcat ctcccgggga gaagatcact 60
atcacctgta gtgccagctc aagtataagt tccatttact tgcattggta tcagcagaag 120
ccaggattct ccctaaagt cttgatttat agggcatcca atctggcttc tggagtccca 180
10 gctcgcttca gtggcagtggt gtctgggacc tcttactctc tcacaattgg caccatggag 240
gctgaagatg ttgccactta ctactgccag cagggtagta ctataccatt cacgttcggc 300
tcggggacaa agttggaaat aaaa 324

15 <210> 29
<211> 216
<212> PRT
<213> Artificial

20 <400> 29
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
25 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser
20 25 30
30 Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
35 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
40 Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Gly Asn Asp Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110
45 Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro
115 120 125
50 Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140
Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser
145 150 155 160 165
55 Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu
165 170 175
60 Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser
180 185 190

65

ES 2 584 907 T3

5 Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val
195 200 205

Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp
210 215

10 <210> 30
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial

15 <400> 30

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Thr Thr Met Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

20 Glu Lys Ile Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ile
20 25 30

25 Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Phe Ser Pro Lys Val Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

30 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Gly Thr Met Glu
65 70 75 80

35 Ala Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Thr Ile Pro
85 90 95

40 Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala
100 105 110

Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser
115 120 125

45 Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Asp
130 135 140

50 Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val
145 150 155 160

Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met
165 170 175

55 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser
180 185 190

60 Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys
195 200 205

65 Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

ES 2 584 907 T3

5 <210> 31
 <211> 648
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Artificial Sequence

10 <400> 31
 gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttctggata cacattcact agctctgtta tgcactgggt gaagcagaag 120
 15 cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaagtac 180
 aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atggaactca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aaaaggggggt 300
 20 aacgatggct actggggcca aggcactact ctcacagtct cctcagccaa aacgacaccc 360
 ccattctgtct atccactggc ccctggatct gctgcccaaa ctaactccat ggtgaccctg 420
 ggatgcctgg tcaagggcta tttccctgag ccagtgcagc tgacctggaa ctctggatcc 480
 25 ctgtccagcg gtgtgcacac cttccagct gtcctgcagt ctgacctcta cactctgagc 540
 agctcagtga ctgtcccctc cagcacctgg cccagcgaga ccgtcacctg caacgttgcc 600
 caccgggcca gcagcaccaa ggtggacaag aaaattgtgc ccagggat 648

30 <210> 32
 <211> 648
 <212> DNA
 <213> Artificial

35 <400> 32
 gaaattgtgc tcacccagtc tccaaccacc atggctgcat ctcccgggga gaagatcact 60
 atcacctgta gtgccagctc aagtataagt tccatttact tgcattggta tcagcagaag 120
 40 ccaggattct cccctaaagt cttgatttat agggcatcca atctggcttc tggagtcca 180
 gctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacaattgg caccatggag 240
 gctgaagatg ttgccactta ctactgccag cagggtagta ctataccatt cacgttcggc 300
 45 tcggggacaa agttggaaat aaaacgggct gatgctgcac caactgtatc catcttcca 360
 ccatccagtg agcagttaac atctggaggt gcctcagtcg tgtgcttctt gaacaacttc 420
 taccagag acatcaatgt caagtgaag attgatggca gtgaacgaca aatgggtgc 480
 50 ctgaacagtt ggactgatca ggacagcaaa gacagcacct acagcatgag cagcacctc 540
 acattgacca aggacgagta tgaacgacat aacagctata cctgtgaggc cactcacaag 600
 acatcaactt caccatcgt caagagcttc aacaggaatg agtgtaa 648

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo antagonista anti CGRP (péptido relacionado con el gen de la calcitonina) para el uso como un medicamento para la prevención o el tratamiento de dolor artrítico, en el que el anticuerpo antagonista anti CGRP no se administra por vía intratecal.
2. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el medicamento está preparado para administrarse periféricamente.
- 10 3. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento se administra periféricamente.
- 15 4. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el medicamento está preparado para ser administrado por vía oral, sublingual, a través de inhalación, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intraarterial, intraarticular, periarticular, a nivel local y/o intramuscular.
- 20 5. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el medicamento está preparado para ser administrado por vía subcutánea o intravenosa.
6. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el anticuerpo antagonista anti CGRP actúa periféricamente en administración.
7. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso según la reivindicación 1, en el que el dolor artrítico es dolor de osteoartritis.
- 25 8. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el anticuerpo antagonista anti CGRP:
- 30 (a) se une a CGRP;
 (b) bloques de CGRP de la unión a su receptor;
 (c) bloquea o disminuye la activación del receptor de CGRP;
 (d) inhibe bloques, suprime o reduce actividad biológica CGRP;
 (e) aumenta el aclaramiento del CGRP; y/o
 (f) inhibe la síntesis de CGRP, producción o liberación.
- 35 9. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el anticuerpo antagonista anti CGRP:
- 40 (i) es un anticuerpo humano;
 (ii) es un anticuerpo humanizado;
 (iii) es un anticuerpo monoclonal;
 (iv) se une CGRP con una Kd de 50 nM o menos (medido por resonancia de plasmón de superficie a 37°C); y/o
 (v) tiene una vida media in vivo de al menos 7 días.
- 45 10. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el anticuerpo antagonista anti CGRP se une específicamente a la región C-terminal de CGRP.
- 50 11. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el anticuerpo antagonista anti CGRP reconoce específicamente el epítipo definido por la secuencia GSKAF.
12. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el anticuerpo anti CGRP comprende un dominio VH que es al menos 90% idéntica en secuencia de aminoácidos con la SEQ ID NO: 1.
- 55 13. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el anticuerpo anti CGRP comprende un dominio VL que es al menos 90% idéntica en secuencia de aminoácidos con la SEQ ID NO: 2.
- 60 14. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso según la reivindicación 13, en el que el anticuerpo anti CGRP comprende además un dominio VH que es al menos 90% idéntica en secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.
15. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el anticuerpo anti CGRP comprende al menos una CDR seleccionada entre el grupo que consiste en:
- 65 (a) CDR HI como se expone en SEQ ID NO: 3;
 (b) CDR H2 como se expone en SEQ ID NO: 4;

- (c) CDR H3 como se expone en SEQ ID NO: 5;
 (d) CDR L1 como se expone en SEQ ID NO: 6;
 (e) CDR L2 como se expone en SEQ ID NO: 7;
 (f) CDR L3 como se expone en SEQ ID NO: 8;
 5 (g) una variante de CDR L1 como se muestra en la Tabla 3;
 (h) una variante de CDR L2 como se muestra en la Tabla 3; y
 (i) una variante de CDR H2, como se muestra en la Tabla 3.
16. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el anticuerpo anti CGRP comprende un dominio VH que es al menos 90% idéntica en secuencia de aminoácidos con la SEQ ID NO: 1 y un dominio VL que es al menos 90% idéntica en secuencia de aminoácidos con la SEQ ID NO: 2.
 10
17. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el anticuerpo anti CGRP comprende una cadena pesada producida por el vector de expresión con el nº de Acceso ATCC PTA 6867.
 15
18. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el anticuerpo anti CGRP comprende una cadena ligera producida por el vector de expresión con el nº de Acceso ATCC PTA-6866.
 20
19. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el anticuerpo anti CGRP es producido por los vectores de expresión con nºs de Acceso ATCC PTA-6867 y PTA-6866.
 25
20. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el medicamento se prepara para la administración periférica por inyección subcutánea o intravenosa entre una, dos, tres o cuatro veces al mes.
 30
21. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en el que el medicamento se prepara para la administración periférica con una concentración de anticuerpo de entre 5 a 100 mg/ml.
 35
22. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el medicamento se prepara para la administración periférica con una concentración de anticuerpo de entre 1 a 100 mg/kg de peso corporal.
 40
23. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el medicamento no produce deterioro CNS de coordinación motor o atención.
 45
24. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en el que el anticuerpo antagonista anti CGRP es una molécula no penetrante en el centro, medular o intratecal.
 50
25. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en el que el anticuerpo anti CGRP se administra por separado, secuencialmente o simultáneamente en combinación con uno o más compuestos farmacológicamente activos.
26. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso según la reivindicación 25, en el que el uno o más compuestos farmacológicamente activo(s) es/son seleccionado(s) de;
- (i) un analgésico opioide;
 (ii) un fármaco no esteroideo antiinflamatorio (AINE), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
 (iii) un sedante de barbiturato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
 55 (iv) una benzodiazepina que tiene una acción sedante, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
 (v) un antagonista de H1 que tiene una acción sedante, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
 (vi) un relajante de músculo esquelético, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
 (vii) un antagonista del receptor de NMDA, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
 (viii) un adrenérgico alfa;
 60 (ix) un antidepresivo tricíclico;
 (x) un anticonvulsivo;
 (xi) una taquicinina (NK) antagonista;
 (xii) un antagonista muscarínico;
 (xiii) un inhibidor de la COX-2;
 65 (xiv) un inhibidor de COX no selectivo;
 (xv) un analgésico de alquitrán de hulla;

- (xvi) un neuroléptico;
- (xvii) un agonista del receptor vaniloide;
- (xviii) un adrenérgico beta;
- (xix) un anestésico local;
- 5 (xx) un corticosteroide;
- (xxi) un agonista del receptor de la serotonina o antagonista;
- (xxii) un analgésico colinérgico;
- (xxiii) de tramadol;
- 10 (xxiv) un inhibidor de PDEV;
- (xxv) un ligando alfa-2-delta; y
- (xxvi) un cannabinoide.

27. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

28. Un anticuerpo antagonista anti CGRP para su uso según la reivindicación 25, en el que el uno o más compuestos farmacológicamente activo es un sedante.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

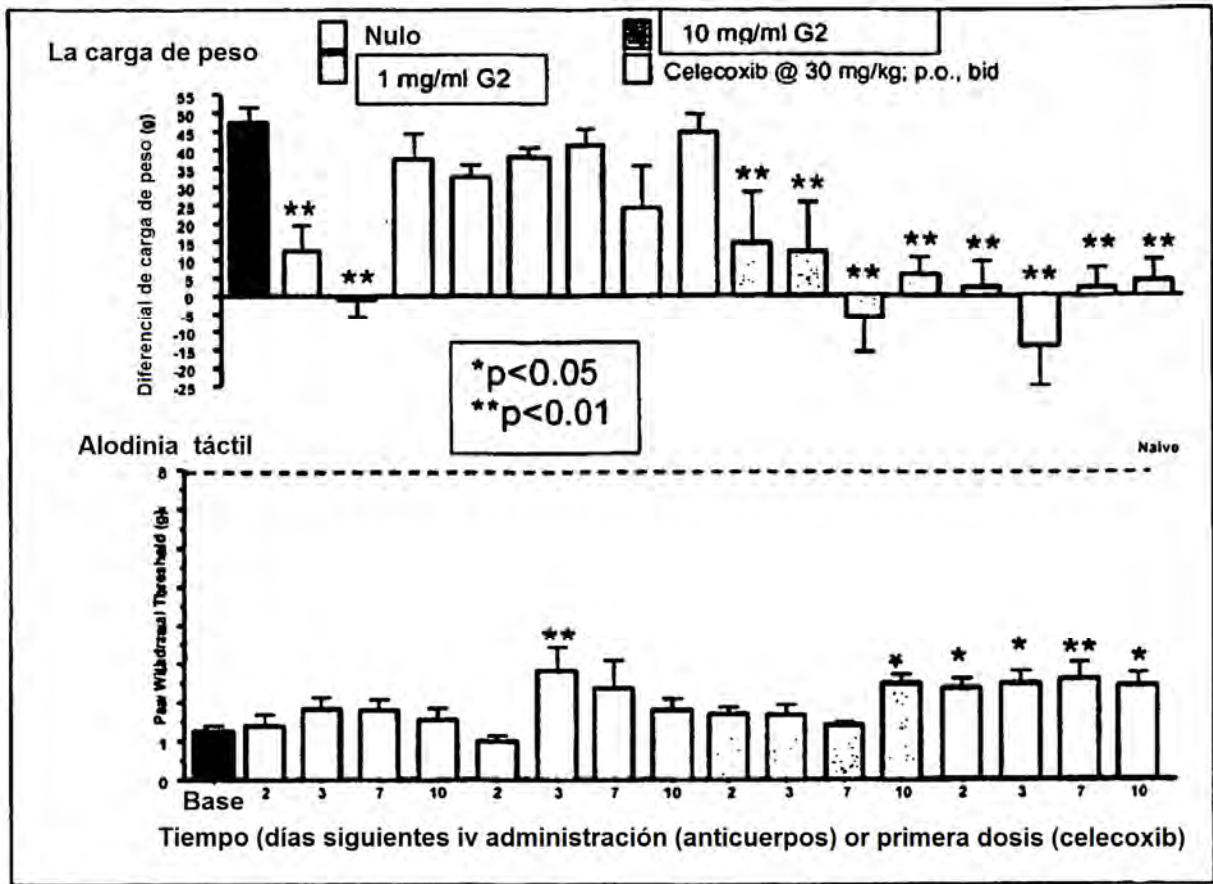


Figura 1

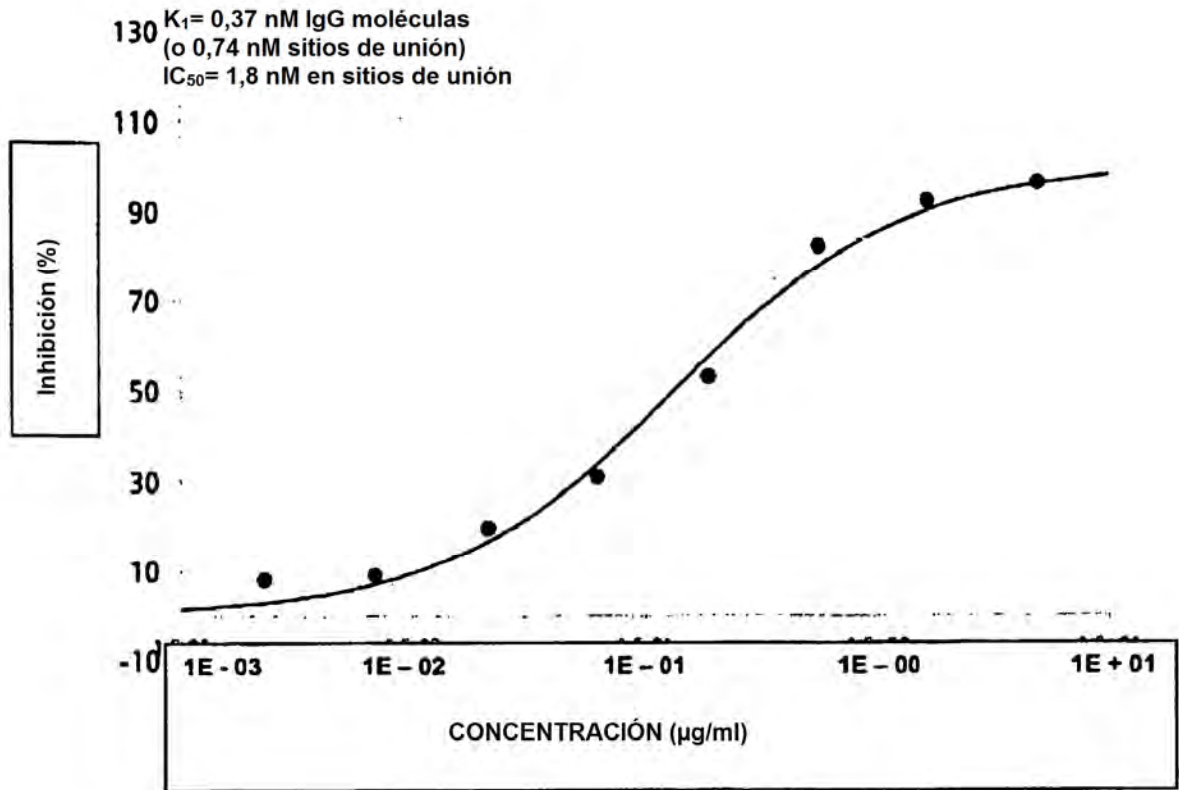


Figura 2

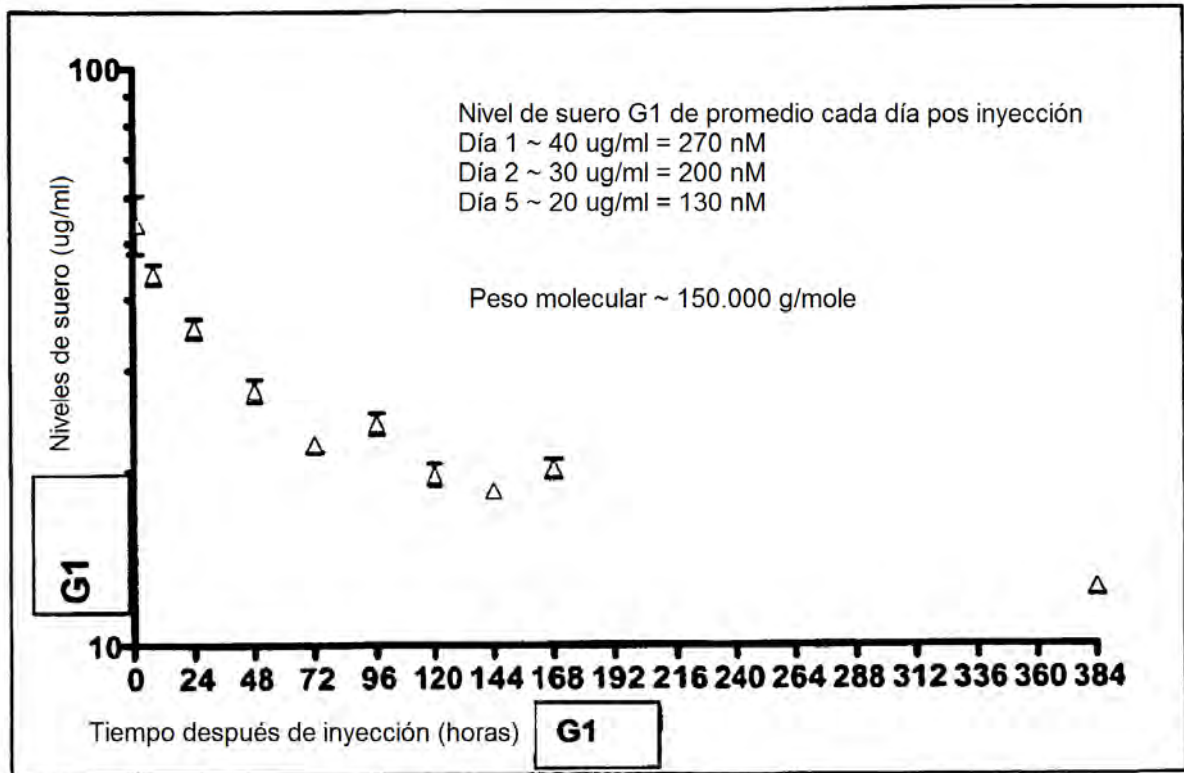
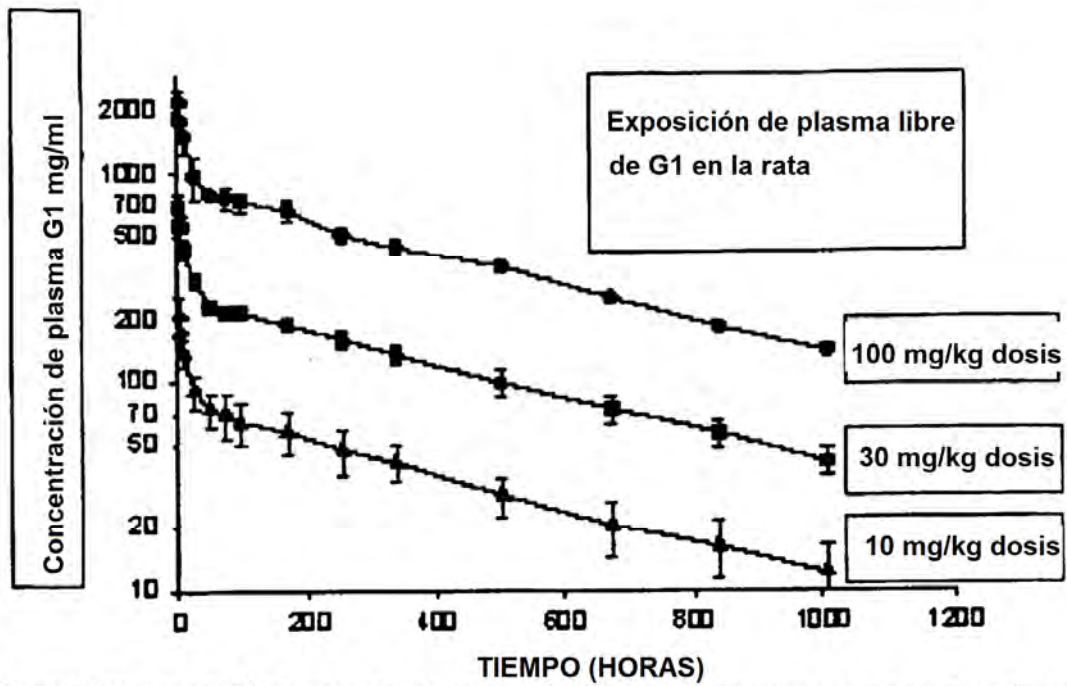


Figura 3a



Concentraciones G1 de plasma de promedio (SD) en ratas varones y hembras (combinadas) siguiendo una sola dosis IV de 10, 30 o 100 mg/kg de G1

Figura 3b

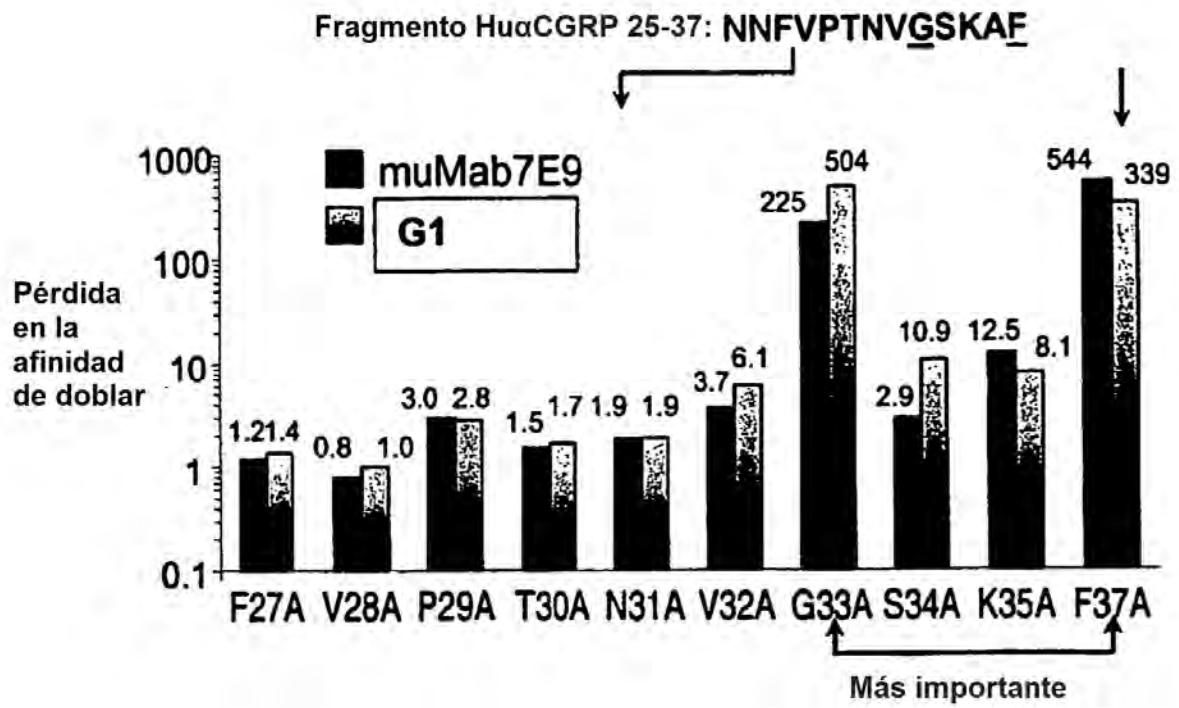


Figura 4

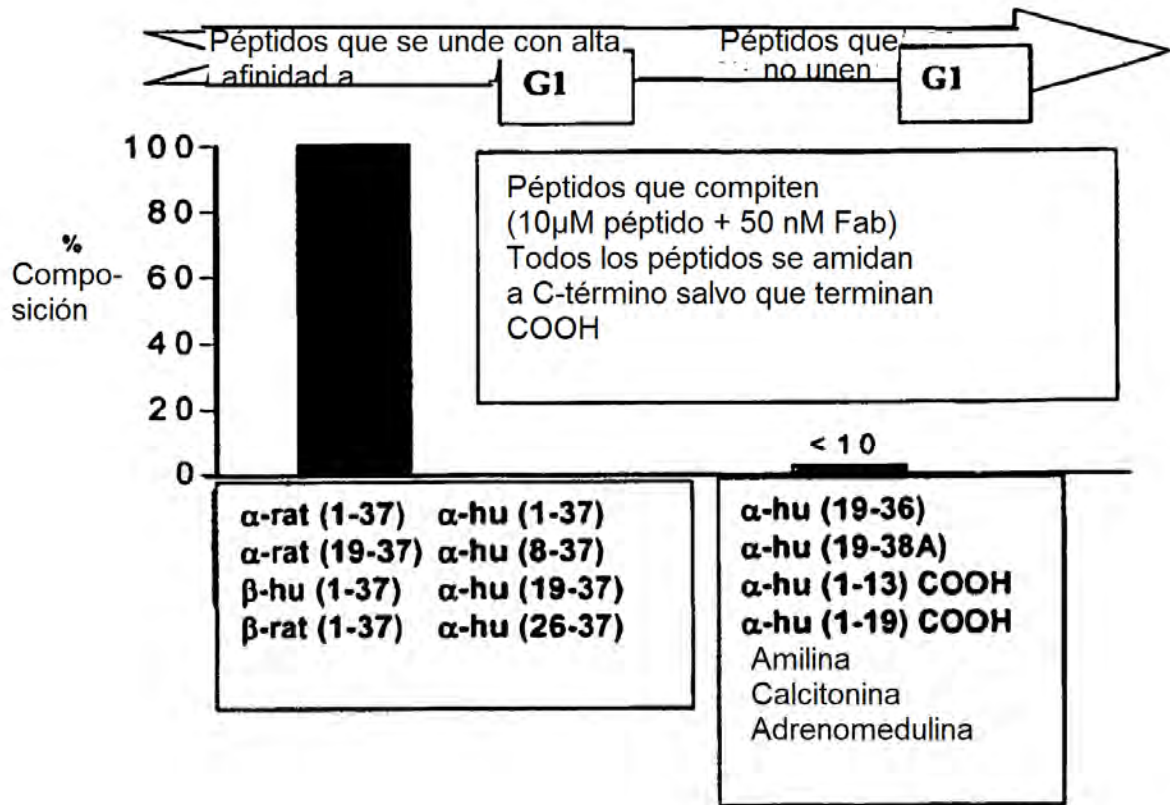


Figura 5

NH2-ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF-CONH2
α-CGRP humana (idéntica a α-CGRP cynomolgus)

NH2-ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNFVPTNVGSKAF-CONH2
β-CGRP humana (idéntica a β-CGRP cynomolgus)

NH2-SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNVGSEAF-CONH2
α-CGRP de rata (idéntica a α-CGRP de ratón y perro)

NH2-SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNVGSKAF-CONH2
β-CGRP de rata

NH2-SCNTATCVTHRLADLLSRSGGVVKDNFVPTDVGSEAF-CONH2
β-CGRP de ratón

NH2-GCNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNFVPTNVGSEAF-CONH2
CGRP de conejo

Figura 6

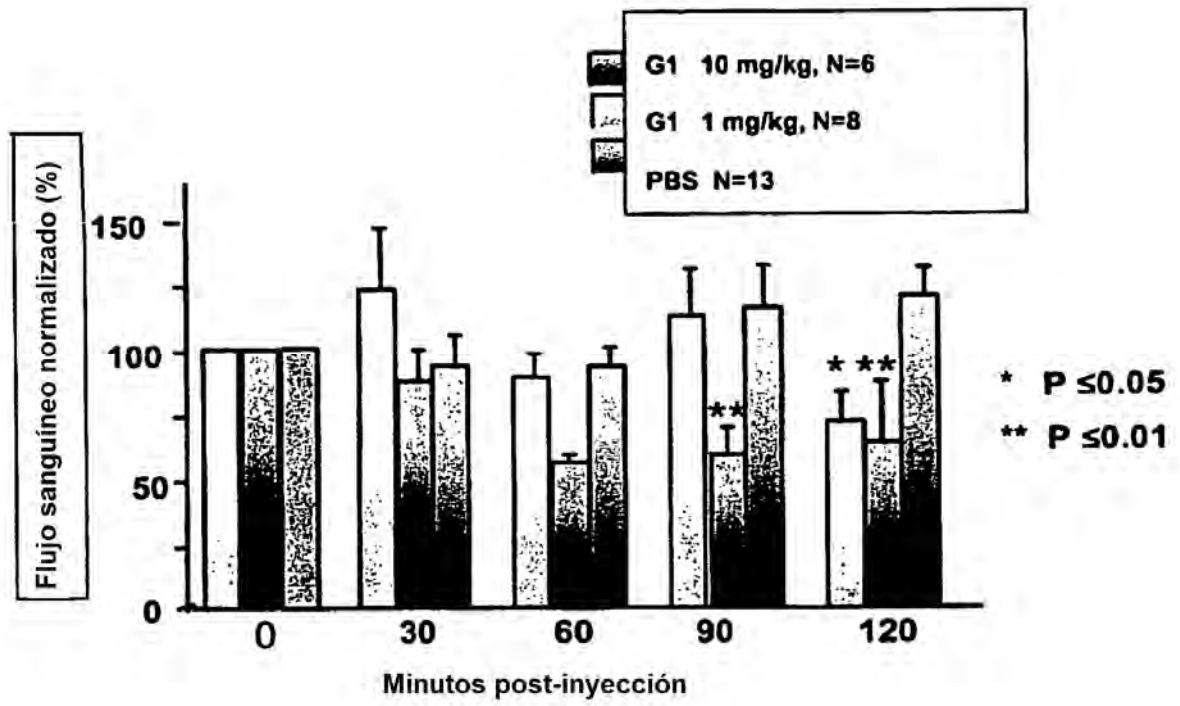


Figura 7