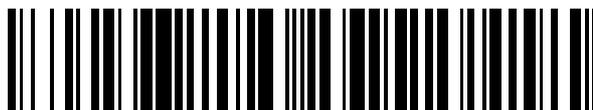


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 662 420**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

C07K 16/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2006 E 14191582 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2017 EP 2848258**

54 Título: **Tratamiento de poliserositis familiar recurrente con anticuerpos anti-IL-1 beta**

30 Prioridad:

26.10.2005 US 730435 P

02.12.2005 US 742125 P

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

06.04.2018

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

LOWE, PHIL;

GRAM, HERMANN;

JUNG, THOMAS;

WRIGHT, TIMOTHY y

MUNDEL, TREVOR

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 662 420 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

Tratamiento de poliserositis familiar recurrente con anticuerpos anti-IL-1 beta

La presente divulgación se refiere al un nuevo uso de compuestos que interrumpen el ligando de IL-1 β /receptor de IL-1 (citados en el presente documento como "compuestos de IL-1 beta"); tales como compuestos moleculares pequeños que interrumpen la interacción del ligando de IL-1 β -receptor de IL-1, anticuerpos de IL-1 β , o anticuerpos del receptor de IL-1, por ejemplo moléculas de enlace de IL-1 β descritas en el presente documento, por ejemplo los anticuerpos desvelados en el presente documento, por ejemplo los compuestos de unión a IL-1 β , o los compuestos de unión al receptor de IL-1, y/o a compuestos de ARN que disminuyen los niveles de los ligandos de IL-1 β o de proteína receptora de IL-1, en el tratamiento y/o en la prevención de síndromes autoinflamatorios, por ejemplo artritis reumatoide juvenil o síndrome de artritis reumatoide de adultos, y a métodos para el tratamiento y/o la prevención de síndromes autoinflamatorios, por ejemplo artritis reumatoide juvenil o síndrome de artritis reumatoide de adultos, en mamíferos, en particular en seres humanos.

La interleucina-1 β (IL-1 beta o IL-1 β o interleucina-1 β tienen el mismo significado en el presente documento) es un potente inmunomodulador que media un amplio rango de respuestas inmunológicas e inflamatorias. La producción inapropiada o excesiva de IL-1 β está asociada con la patología de diversas enfermedades y trastornos, tales como septicemia, choque séptico o endotóxico, alergias, asma, pérdida ósea, isquemia, embolia, artritis reumatoide, y otros trastornos inflamatorios. Se han propuesto anticuerpos para IL-1 β , para su uso en el tratamiento de las enfermedades y trastornos mediados por IL-1; véase, por ejemplo, el documento WO 95/01997, y la discusión en su introducción, y el documento WO 02/16436.

De acuerdo con la presente divulgación, actualmente se ha descubierto sorprendentemente que los compuestos de IL-1 beta son útiles en la prevención y en el tratamiento de síndromes autoinflamatorios, en pacientes tales como en mamíferos, en particular en seres humanos. Los síndromes autoinflamatorios de acuerdo con la divulgación son, por ejemplo, pero no se limitan a, un grupo de trastornos hereditarios caracterizados por episodios recurrentes de inflamación que, en contraste con las enfermedades autoinmunitarias, carecen de autoanticuerpos de alta titulación o de linfocitos T específicos de los antígenos. Adicionalmente, los síndromes autoinflamatorios de acuerdo con la invención muestran una mayor secreción de IL-1 beta (pérdida de la función de regulador negativo de la pirina, que parece mutada en dichas enfermedades), una activación de NF κ B, y una apoptosis de leucocitos deteriorada. Los síndromes autoinflamatorios de acuerdo con las invenciones son los síndromes de Muckle-Wells (MWS), el síndrome autoinflamatorio por resfriado familiar (FCAS), el síndrome inflamatorio de múltiples sistemas de establecimiento neonatal (NOMID), el síndrome neurológico, cutáneo, articular infantil crónico (CINCA), la poliserositis familiar recurrente (PFR), y/o cierta forma de artritis juvenil, tal como artritis juvenil idiopática de establecimiento sistémico (SOIJA), cierta forma de artritis reumatoide juvenil, tal como artritis reumatoide juvenil idiopática de establecimiento sistémico y/o cierta forma de artritis reumatoide de adultos. Preferentemente, los compuestos de IL-1 beta son útiles en la prevención y el tratamiento de artritis reumatoide juvenil y de artritis reumatoide de adultos, y/o del síndrome de Muckle-Wells.

La poliserositis familiar recurrente (PFR) se trató previamente con colchicina, que debería tomarse de manera regular toda la vida (Medlej-Hashim et al, Sante. Oct-Dic de 2004; 14(4):261-266).

De conformidad con los hallazgos particulares de la presente divulgación, se proporcionan las siguientes realizaciones:

La presente invención proporciona un medicamento para su uso en el tratamiento de poliserositis familiar recurrente, el medicamento que comprende un anticuerpo de unión a IL-1 beta humana, el anticuerpo que comprende dominios variables tanto de cadena pesada (VH) como de cadena ligera (VL) en los que dicho anticuerpo de unión a IL-1 beta comprende al menos un sitio de unión a antígeno que comprende: un primer dominio que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se muestra en la SEQ ID NO:1 y un segundo dominio que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se muestra en la SEQ ID NO:2, y en donde dicho anticuerpo se administra por vía parenteral a una dosis entre 0,1-50 mg de dicho anticuerpo por kg de peso corporal del paciente.

La presente divulgación trata de composiciones y métodos para la prevención y el tratamiento de síndromes autoinflamatorios en mamíferos, incluyendo seres humanos. De acuerdo con lo anterior, los compuestos de IL-1 beta también son útiles para preparar medicinas y medicamentos para el tratamiento de síndromes autoinflamatorios. En un aspecto específico, estas medicinas y medicamentos comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos de IL-1 beta con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, la divulgación proporciona el uso de un anticuerpo que se une específicamente con cualquiera de los polipéptidos descritos anteriormente o más adelante, por ejemplo ligando de IL-1 β o receptor de IL-1 β , preferentemente ligando de IL-1 β , en la prevención y/o el tratamiento de artritis reumatoide juvenil o de síndrome de artritis reumatoide de adultos, y/u otros síndromes autoinflamatorios y/o síndrome de Muckle-Wells. Opcionalmente,

- el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo humanizado, un fragmento de anticuerpo, o un anticuerpo de una sola cadena. En un aspecto, la presente invención trata de un anticuerpo aislado que se une a un ligando de IL-1 β . En otro aspecto, el anticuerpo inhibe o neutraliza la actividad de un ligando de IL-1 β (un anticuerpo antagonista). En otro aspecto, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, el cual tiene restos de la región determinante de complementariedad (CDR) humana o no humana, y restos de la región marco (FR) humana. El anticuerpo se puede marcar, y se puede inmovilizar sobre un soporte sólido. En un aspecto adicional, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo de una sola cadena, o un anticuerpo antiidiotípico. En otra realización más, la presente invención proporciona una composición que comprende un anticuerpo anti-ligando de IL-1 β o anti-receptor de IL-1 β , preferentemente un anticuerpo anti-ligando de IL-1 β , en una mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable. En un aspecto, la composición comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo. Preferentemente, la composición es estéril. La composición se puede administrar en la forma de una formulación farmacéutica líquida, la cual se puede conservar para alcanzar una estabilidad de almacenamiento prolongada. Como alternativa, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un fragmento de anticuerpo, un anticuerpo humanizado, o un anticuerpo de una sola cadena.
- 15 En otra realización, la divulgación proporciona el uso de compuestos de IL-1 beta, por ejemplo anticuerpo de IL-1 beta, que son capaces de interrumpir el bucle de retroalimentación positiva de IL-1 beta in vivo; en la prevención y/o el tratamiento de artritis reumatoide juvenil o artritis reumatoide de adultos y/u otros síndromes autoinflamatorios y/o síndrome de Muckle-Wells. Esta retroalimentación positiva in vivo conduce a una sobreproducción autosostenida de IL-1 β en estos pacientes.
- 20 En otra realización, la divulgación proporciona el uso de un compuesto de IL-1 beta, por ejemplo un anticuerpo de IL-1 beta, en enfermedades con una mutación en el gen MEFV, localizado sobre el cromosoma 16p13, y el cual codifica la proteína pirina (también conocida como marenostrina). La pirina se expresa en los granulocitos, en los monocitos y en los fibroblastos sinoviales. La pirina está implicada en el procesamiento de IL-1 beta.
- 25 En una realización adicional, la divulgación trata de un artículo de fabricación, el cual comprende: (a) una composición de materia que comprende un anticuerpo anti-ligando de IL-1 beta o anti-receptor de IL-1 beta, preferentemente un anticuerpo anti-ligando de IL-1 β ; (b) un recipiente que contiene esta composición; y (c) una etiqueta fijada a dicho recipiente, o un prospecto incluido en dicho recipiente, que hace referencia al uso de dicho anticuerpo anti-ligando de IL-1 β o anti-receptor de IL-1 β , preferentemente un anticuerpo anti-ligando de IL-1 β , en el tratamiento de artritis reumatoide juvenil o de artritis reumatoide de adultos y/u otros síndromes autoinflamatorios y/o síndrome de Muckle-Wells. La composición puede comprender una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-ligando de IL-1 β o anti-receptor de IL-1 β , preferentemente anti-ligando de IL-1 β .
- 30 En una realización adicional más, la divulgación proporciona un método o el uso, tal como se define anteriormente, el cual comprende la coadministración de una cantidad terapéuticamente eficaz de compuestos de IL-1 beta en forma libre o en forma de sal, preferentemente en una forma de administración farmacéuticamente aceptable, tal como por vía intravenosa o subcutánea, y una segunda sustancia de fármaco, siendo esta segunda sustancia de fármaco un compuesto antiinflamatorio en forma libre o en forma de sal.
- 35 En una realización adicional más, un compuesto de IL-1 beta utilizado de acuerdo con la invención es una molécula de unión a IL-1 β , la cual comprende un sitio de unión a antígeno que comprende al menos un dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H), el cual comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos Val-Tyr-Gly-Met-Asn, teniendo dicha CDR2 la secuencia de aminoácidos Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly, y teniendo dicha CDR3 la secuencia de aminoácidos Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro; y sus equivalentes directos.
- 40 En una realización adicional más, un Compuesto de IL-1 beta utilizado de acuerdo con la invención es una molécula de enlace de IL-1 β , la cual comprende cuando menos un dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L), el cual comprende en su secuencia las regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3', teniendo dicha CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His, teniendo dicha CDR2' la secuencia de aminoácidos Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser, y teniendo dicha CDR3' la secuencia de aminoácidos His-Gln-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro, y sus equivalentes directos.
- 45 En una realización adicional más, un compuesto de IL-1 beta utilizado de acuerdo con la divulgación es una molécula de unión a IL-1 beta de un solo dominio, que comprende una cadena pesada de inmunoglobulina aislada que comprende un dominio variable de cadena pesada (V_H) tal como se define anteriormente, por ejemplo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de artritis reumatoide juvenil o de síndrome de artritis reumatoide de adultos y/u otros síndromes autoinflamatorios, preferentemente artritis reumatoide juvenil o síndrome de artritis reumatoide de adultos y/o síndrome de Muckle-Wells.
- 50 En una realización adicional más, un compuesto de IL-1 beta utilizado de acuerdo con la invención es una molécula de unión a IL-1 β que comprende ambos dominios variables de cadena pesada (V_H) y de cadena ligera (V_L), en donde dicha molécula de unión a IL-1 β comprende al menos un sitio de enlace a antígeno que comprende:
- 55

a) un dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H), el cual comprende en su secuencia las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos Val-Tyr-Gly-Met-Asn, teniendo dicha CDR2 la secuencia de aminoácidos Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly, y teniendo dicha CDR3 la secuencia de aminoácidos Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro; y

5 b) un dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L), el cual comprende en su secuencia las regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3', teniendo dicha CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His, teniendo dicha CDR2' la secuencia de aminoácidos Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser, y teniendo dicha CDR3' la secuencia de aminoácidos His-Gln-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro;

y sus equivalentes directos.

10 A menos que se indique de otra manera, cualquier cadena de polipéptido se describe en el presente documento como que tiene una secuencia de aminoácidos que comienza en el extremo N-terminal, y que finaliza en el extremo C-terminal. Cuando el sitio de unión a antígeno comprende ambos dominios V_H y V_L , éstos se pueden localizar sobre la misma molécula de polipéptido, o preferentemente, cada dominio puede estar sobre una cadena diferente, siendo el dominio V_H parte de una cadena pesada de inmunoglobulina o un fragmento de la misma, y siendo el V_L parte de una cadena ligera de inmunoglobulina o un fragmento de la misma.

15 "Molécula de enlace de IL-1 β " significa cualquier molécula capaz de unirse al ligando de IL-1 β , ya sea sola o asociada a otras moléculas. La reacción de unión se puede demostrar mediante métodos convencionales (ensayos cualitativos) que incluyen, por ejemplo, un bioensayo para determinar la inhibición de la unión de IL-1 β con su receptor, o cualquier clase de ensayos de unión, con referencia a un ensayo de control negativo, en donde se utiliza un anticuerpo de una especificidad no relacionada pero del mismo isotipo, por ejemplo un anticuerpo anti-CD25. De una manera conveniente, la unión de las moléculas de unión de IL-1 β de la divulgación a IL-1 β se puede demostrar en un ensayo de unión competitiva.

20 Los ejemplos de las moléculas de unión a antígeno incluyen los anticuerpos producidos por los linfocitos B o hibridomas, y los anticuerpos quiméricos, con inserciones de CDR, o humanos, o cualquier fragmento de los mismos, por ejemplo los fragmentos F(ab')₂ y Fab, así como los anticuerpos de una sola cadena o de un solo dominio.

25 Un anticuerpo de una sola cadena consiste en los dominios variables de las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo unido covalentemente mediante un enlazador peptídico, que normalmente consiste en 10 a 30 aminoácidos, preferentemente en 15 a 25 aminoácidos. Por consiguiente, esta estructura no incluye la región constante de las cadenas pesada y ligera, y se cree que el espaciador peptídico pequeño debe ser menos antigénico que una parte constante entera. "Anticuerpo quimérico" significa un anticuerpo en donde las regiones constantes de las cadenas pesada o ligera, o ambas, son de origen humano, mientras que los dominios variables de ambas cadenas pesada y ligera son de origen no humano (por ejemplo, de murino), o de origen humano pero que provienen de un anticuerpo humano diferente. "Anticuerpo con inserciones de CDR" significa un anticuerpo en donde las regiones hipervariables (CDR) provienen de un anticuerpo donador, tal como un anticuerpo no humano (por ejemplo, de murino), o de un anticuerpo humano diferente, mientras que todas o sustancialmente todas las otras partes de la inmunoglobulina, por ejemplo las regiones constantes y las partes altamente conservadas de los dominios variables, es decir, las regiones de estructura, provienen de un anticuerpo aceptor, por ejemplo un anticuerpo de origen humano. Sin embargo, un anticuerpo con inserciones de CDR puede contener varios aminoácidos de la secuencia donadora en las regiones marco, por ejemplo, en las partes de las regiones marco adyacentes a las regiones hipervariables. "Anticuerpo humano" significa un anticuerpo en donde las regiones constante y variable de ambas cadenas pesada y ligera son todas de origen humano, o sustancialmente idénticas a las secuencias de origen humano, no necesariamente a partir del mismo anticuerpo, e incluye los anticuerpos producidos por ratones, en donde los genes de la parte variable y constante de inmunoglobulina de murino se han reemplazado por sus contrapartes humanas, por ejemplo tal como se describe en términos generales en las Patentes Números EP 0546073 B1, USP 5545806, USP 5569825, USP 5625126, USP 5633425, USP 5661016, USP 5770429, EP 0 438474 B1, y EP 0 463151 B1.

30 Las moléculas de unión a IL-1 β particularmente preferidas de la invención son los anticuerpos humanos, en especial el anticuerpo ACZ885, tal como se describe posteriormente en el presente documento, en los Ejemplos, y en el documento WO 02/16436.

35 Por consiguiente, en los anticuerpos preferidos de la invención, los dominios variables de ambas cadenas pesada y ligera son de origen humano, por ejemplo aquellas del anticuerpo ACZ 885, que se muestran en las SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:2. Los dominios de la región constante preferidos también comprenden dominios de región constante humanos adecuados, por ejemplo tal como se describe en "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Kabat E. A. et al., Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, Servicio de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud.

Las regiones hipervariables se pueden asociar con cualquier clase de regiones marco, aunque preferentemente son de origen humano. Las regiones marco adecuadas se describen en Kabat E. A. et al., citado anteriormente. La estructura de cadena pesada preferida es una estructura de cadena pesada humana, por ejemplo la del anticuerpo ACZ 885, que se muestra en la SEQ ID NO:1. Ésta consiste en secuencia de las regiones FR1, FR2, FR3, y FR4. De una manera similar, la SEQ ID NO:2 muestra la estructura de cadena ligera de ACZ 885 preferida, la cual consiste, en secuencia, en las regiones FR1', FR2', FR3', y FR4'.

De acuerdo con lo anterior, la divulgación también proporciona una molécula de unión a IL-1 β , la cual comprende al menos un sitio de unión a antígeno que comprende ya sea un primer dominio que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la que se muestra en la SEQ ID NO:1, empezando con el aminoácido en la posición 1 y finalizando con el aminoácido en la posición 118, o bien un primer dominio tal como se describe anteriormente, y un segundo dominio que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la que se muestra en la SEQ ID NO:2, empezando con el aminoácido en la posición 1, y finalizando con el aminoácido en la posición 107.

Los anticuerpos monoclonales generados contra una proteína que se encuentra de forma natural en todos los seres humanos típicamente se desarrollan en un sistema no humano, por ejemplo en ratones, y como tales, son típicamente proteínas no humanas. Como consecuencia directa de esto, un anticuerpo xenogénico, como es producido por un hibridoma, cuando se administra a seres humanos, provoca una respuesta inmunitaria indeseable, la cual es predominantemente mediada por la parte constante de la inmunoglobulina xenogénica. Esto limita claramente el uso de estos anticuerpos, debido a que no se pueden administrar durante un período de tiempo prolongado. Por consiguiente, se prefiere particularmente utilizar anticuerpos de una sola cadena, de un solo dominio, quiméricos, con inserciones de CDR, o en especial humanos, que no tengan probabilidades de provocar una respuesta alérgica sustancial cuando se administren a seres humanos.

En vista de lo anterior, una molécula de unión a IL-1 β más preferida de la divulgación se selecciona a partir de una anticuerpo anti-IL-1 β humano, el cual comprende al menos:

a) una cadena pesada de inmunoglobulina o un fragmento de la misma, que comprende: (i) un dominio variable que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, y (ii) la parte constante o fragmento de la misma de una cadena pesada humana; teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos Val-Tyr-Gly-Met-Asn, teniendo dicha CDR2 la secuencia de aminoácidos Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly, y teniendo dicha CDR3 la secuencia de aminoácidos Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro, y

b) una cadena ligera de inmunoglobulina, o fragmento de la misma, que comprende: (i) un dominio variable que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables, y opcionalmente también las regiones hipervariables CDR1, CDR2', y CDR3', y (ii) la parte constante o fragmento de la misma de una cadena ligera humana, teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His, teniendo dicha CDR2' la secuencia de aminoácidos Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser, y teniendo dicha CDR3' la secuencia de aminoácidos His-Gln-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro;

y sus equivalentes directos.

Como alternativa, una molécula de unión a IL-1 β de la divulgación se puede seleccionar a partir de una molécula de unión de una sola cadena, la cual comprende un sitio de unión a antígeno que comprende:

a) un primer dominio que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos Val-Tyr-Gly-Met-Asn, teniendo dicha CDR2 la secuencia de aminoácidos Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly, y teniendo dicha CDR3 la secuencia de aminoácidos Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro,

b) un segundo dominio que comprende las regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3', teniendo dicha CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His, teniendo dicha CDR2' la secuencia de aminoácidos Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser, y teniendo dicha CDR3' la secuencia de aminoácidos His-Gln-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro, y

c) un enlazador peptídico que se unie ya sea con el extremo N-terminal del primer dominio y con el extremo C-terminal del segundo dominio, o bien con el extremo C-terminal del primer dominio y con el extremo N-terminal del segundo dominio;

y sus equivalentes directos.

Como bien se sabe, los cambios menores en la secuencia de aminoácidos, tales como delección, adición o sustitución de uno, unos cuantos, o inclusive varios aminoácidos, pueden llevar a una forma alélica de la proteína original que tenga propiedades sustancialmente idénticas.

5 Por consiguiente, el término "sus equivalentes directos" significa cualquier molécula de unión a IL-1 β de un solo dominio (molécula X),

(i) en donde las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, tomadas como un todo, son al menos el 80 % homólogas, preferentemente al menos el 90 % homólogas, más preferiblemente cuando menos el 95 % homólogas a las regiones hipervariables mostradas anteriormente, y

10 (ii) la cual es capaz de inhibir la unión de IL-1 β con su receptor sustancialmente hasta el mismo grado en que una molécula de referencia que tenga regiones marco idénticas a las de la molécula X, pero que tenga regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3 idénticas a las mostradas anteriormente,

o bien, cualquier molécula de unión a IL-1 β que tenga al menos dos dominios por sitio de unión (molécula X'),

15 (i) en donde las regiones hipervariables CDR1, CDR2, CDR3, CDR1', CDR2', y CDR3', tomadas como un todo, son al menos el 80 % homólogas, preferentemente al menos el 90 % homólogas, más preferentemente al menos el 95 % homólogas, a las regiones hipervariables mostradas anteriormente, y

(ii) que sea capaz de inhibir la unión de IL-1 β con su receptor sustancialmente hasta el mismo grado en que una molécula de referencia que tenga las regiones marco y las partes constantes idénticas a la molécula X', pero que tenga las regiones hipervariables CDR1, CDR2, CDR3, CDR1', CDR2', y CDR3', idénticas a las mostradas anteriormente.

20 En un aspecto adicional, la divulgación también proporciona una molécula de unión a IL-1 beta, la cual comprende ambos dominios variables de cadena pesada (V_H) y de cadena ligera (V_L), en donde esta molécula de unión a IL-1 beta comprende al menos un sitio de unión a antígeno que comprende:

25 a) un dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H), que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos Ser-Tyr-Trp-Ile-Gly, teniendo dicha CDR2 la secuencia de aminoácidos Ile-Ile-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ser-Asp-Thr-Arg-Tyr-Ser-Pro-Ser-Phe-Gln-Gly, y teniendo dicha CDR3 la secuencia de aminoácidos Tyr-Thr-Asn-Trp-Asp-Ala-Phe-Asp-Ile, y

b) un dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L), que comprende una región hipervariable de CDR3' que tiene la secuencia de aminoácidos Gln-Gln-Arg-Ser-Asn-Trp-Met-Phe-Pro;

y sus equivalentes directos.

30 En un aspecto adicional, la divulgación proporciona una molécula de unión a IL-1 beta que comprende ambos dominios variables de cadena pesada (V_H) y de cadena ligera (V_L), en donde esta molécula de unión a IL-1 beta comprende al menos un sitio de unión a antígeno que comprende:

35 a) un dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H), que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos Ser-Tyr-Trp-Ile-Gly, teniendo dicha CDR2 la secuencia de aminoácidos Ile-Ile-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ser-Asp-Thr-Arg-Tyr-Ser-Pro-Ser-Phe-Gln-Gly, y teniendo dicha CDR3 la secuencia de aminoácidos Tyr-Thr-Asn-Trp-Asp-Ala-Phe-Asp-Ile, y

40 b) un dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L), el cual comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3', teniendo dicha CDR1' la secuencia de aminoácidos Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Ala, teniendo dicha CDR2' la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser-Asn-Arg-Ala-Thr, y teniendo dicha CDR3' la secuencia de aminoácidos Gln-Gln-Arg-Ser-Asn-Trp-Met-Phe-Pro;

y sus equivalentes directos.

En la presente descripción, las secuencias de aminoácidos son al menos el 80 % homólogas unas a otras, si tienen al menos el 80 % de los restos de aminoácidos idénticos en la misma posición cuando se alinea la secuencia óptimamente, contándose los huecos o inserciones en las secuencias de aminoácidos como restos no idénticos.

45 La inhibición de la unión de IL-1 β con su receptor se puede ensayar convenientemente en diferentes ensayos, incluyendo los ensayos descritos en el documento WO 02/16436. El término "hasta el mismo grado" significa que las moléculas de referencia y equivalentes presentan, sobre una base estadística, curvas de inhibición de unión de IL-1 β

esencialmente idénticas en uno de los ensayos anteriormente citados. Por ejemplo, en las moléculas de unión a IL-1 β de la divulgación, típicamente tienen CI₅₀ para la inhibición de la unión de IL-1 β con su receptor, que están dentro de +/- x5 de aquélla de, preferiblemente sustancialmente la misma que, la CI₅₀ de la molécula de referencia correspondiente, cuando se ensayan tal como se describe anteriormente.

- 5 Por ejemplo, el ensayo utilizado puede ser un ensayo de inhibición competitiva de unión a IL-1 β mediante receptores de IL-1 solubles y las moléculas de unión a IL-1 β de la divulgación.

Más preferentemente, la molécula de unión a IL-1 β para su uso de acuerdo con la divulgación es un anticuerpo de IL-1 humano, el cual comprende al menos:

- 10 a) una cadena pesada que comprende un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la mostrada en la SEQ ID NO:1, empezando con el aminoácido en la posición 1, y finalizando con el aminoácido en la posición 118, y la parte constante de una cadena pesada humana; y

b) una cadena ligera que comprende un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la mostrada en la SEQ ID NO:2, empezando con el aminoácido en la posición 1, y finalizando con el aminoácido en la posición 107, y la parte constante de una cadena ligera humana.

- 15 Más preferentemente, la molécula de unión a IL-1 β para su uso de acuerdo con la divulgación es ACZ885 (véase el Ejemplo).

La parte constante de una cadena pesada humana puede ser del tipo γ_1 , γ_2 , γ_3 , γ_4 , μ , α_1 , α_2 , δ o ϵ , preferentemente del tipo γ , más preferentemente del tipo γ_1 , mientras que la parte constante de una cadena ligera humana puede ser del tipo κ o λ (que incluye los subtipos λ_1 , λ_2 , y λ_3), pero preferentemente es del tipo κ . Las secuencias de aminoácidos de todas estas partes constantes se dan en Kabat et al., citado anteriormente.

Una molécula de unión a IL-1 β de la divulgación se puede producir mediante técnicas de ADN recombinante, por ejemplo, tal como se describe en el documento WO 02/16436.

En otra realización más de la invención, los compuestos de IL-1 β pueden ser anticuerpos que tengan una especificidad de unión para el epítipo antigénico de la IL-1 β humana, que incluya el bucle que comprende el resto Glu 64 de la IL-1 β humana madura (el resto Glu 64 de la IL-1 β humana madura se corresponde con el residuo 180 del precursor de IL-1 β humana). Este epítipo está fuera del sitio de reconocimiento del receptor de IL-1 β , y por consiguiente, es muy sorprendente que los anticuerpos para este epítipo, por ejemplo el anticuerpo ACZ885, sean capaces de inhibir la unión de IL-1 β con su receptor. Por lo tanto, el uso de estos anticuerpos para el tratamiento de artritis reumatoide juvenil y de artritis reumatoide de adultos y/o de síndromes autoinflamatorios y/o síndrome de Muckle-Wells es novedoso, y se incluye dentro del alcance de la presente invención.

Por consiguiente, en un aspecto adicional, la divulgación incluye el uso de un anticuerpo para IL-1 β , el cual tiene especificidad de unión a antígeno para un epítipo antigénico de la IL-1 β humana, que incluye el bucle que comprende el resto Glu 64 de la IL-1 β humana madura, y que es capaz de inhibir la unión de IL-1 β con su receptor, para el tratamiento de artritis reumatoide juvenil o artritis reumatoide de adultos y/o síndromes autoinflamatorios y/o síndrome de Muckle-Wells.

En otros aspectos adicionales, la divulgación incluye:

- 40 i) el uso de un anticuerpo para IL-1 β , el cual tiene especificidad de unión a antígeno para un epítipo antigénico de la IL-1 β humana madura, que incluye el bucle que comprende Glu 64, y que es capaz de inhibir la unión de IL-1 β con su receptor, para la prevención y/o el tratamiento de artritis reumatoide juvenil o artritis reumatoide de adultos y/o síndromes autoinflamatorios y/o síndrome de Muckle-Wells,

45 ii) un método para la prevención y/o el tratamiento de artritis reumatoide juvenil o artritis reumatoide de adultos y/o síndromes autoinflamatorios y/o síndrome de Muckle-Wells, en un paciente, el cual comprende administrar al paciente, una cantidad eficaz de un anticuerpo para IL-1 β , que tenga especificidad de unión a antígeno para un epítipo de la IL-1 β humana madura, el cual incluye el bucle que comprende Glu 64, y que es capaz de inhibir la unión de IL-1 β con su receptor;

50 iii) una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo para IL-1 β , que tiene una especificidad de unión a antígeno para un epítipo antigénico de la IL-1 β humana madura, que incluye el bucle que comprende Glu 64, y que es capaz de inhibir la unión de IL-1 β con su receptor, en combinación con un excipiente, diluyente, o vehículo farmacéuticamente aceptable; para el tratamiento de artritis reumatoide juvenil o síndrome de artritis reumatoide de adultos y/o síndromes autoinflamatorios y/o síndrome de Muckle-Wells;

iv) el uso de un anticuerpo para IL-1 β , el cual tiene una especificidad de unión a antígeno para un epítipo antigénico de la IL-1 β humana madura, que incluye el bucle que comprende Glu 64, y que es capaz de inhibir la unión de IL-1 β con su receptor, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de artritis reumatoide juvenil o síndrome de artritis reumatoide de adultos y/o síndromes autoinflamatorios y/o síndrome de Muckle-Wells.

Para los propósitos de la presente descripción, un anticuerpo es "capaz de inhibir la unión a IL-1 β " si el anticuerpo es capaz de inhibir la unión de IL-1 β con su receptor sustancialmente hasta el mismo grado que el anticuerpo ACZ 885, es decir, tiene una constante de equilibrio de disociación (K_D) medida, por ejemplo, en un análisis BIAcore estándar, tal como se desvela en el Ejemplo, de 10 nM o menos, por ejemplo de 1 nM o menos, preferentemente de 100 pM o menos, más preferentemente de 50 pM o menos.

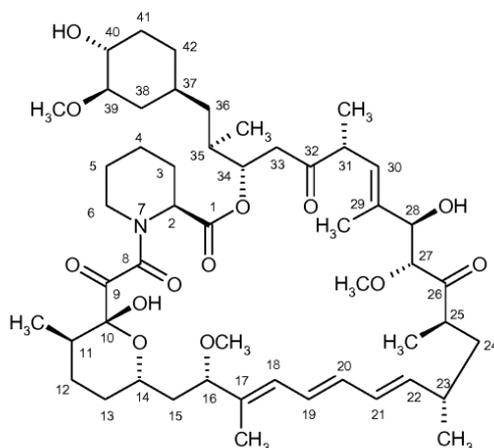
Por consiguiente, en un aspecto adicional más, la divulgación proporciona el uso de un anticuerpo para IL-1 β , que tiene una K_D para la unión a IL-1 β de aproximadamente 10 nM, 1 nM, preferentemente 100 pM, más preferentemente 50 pM o menos, para el tratamiento de artritis reumatoide juvenil o síndrome de artritis reumatoide de adultos y/o síndromes autoinflamatorios. Este aspecto de la divulgación también incluye los usos, métodos, y composiciones para estos anticuerpos de alta afinidad, tal como se describe anteriormente para los anticuerpos para IL-1 β , que tengan especificidad de unión para un determinante antigénico de la IL-1 β humana madura, que incluya el bucle que comprende Glu 64.

En la presente descripción, la expresión "artritis reumatoide juvenil o síndrome de artritis reumatoide de adultos y/o síndromes autoinflamatorios" abarca todas las enfermedades y afecciones médicas que sean parte de la artritis reumatoide juvenil o del síndrome de artritis reumatoide de adultos y/o de los síndromes autoinflamatorios, ya sea directamente o indirectamente, en la enfermedad o afección médica, incluyendo la causa, el desarrollo, el progreso, la persistencia o la patología de la enfermedad o afección.

En la presente descripción, la expresión "síndrome de Muckle-Wells" (también "MWS") abarca todas las enfermedades y afecciones médicas que sean parte del "síndrome de Muckle-Wells", ya sea directa o indirectamente, en la enfermedad o afección médica, incluyendo la causa, el desarrollo, el progreso, la persistencia o la patología de la enfermedad o afección.

Los compuestos de la Fórmula I se pueden administrar como el único ingrediente activo, o en conjunto con, por ejemplo, como un adyuvante para, otros fármacos, por ejemplo agentes inmunosupresores o inmunomoduladores u otros agentes antiinflamatorios, por ejemplo para el tratamiento o la prevención de rechazo agudo o crónico de aloinjerto o xenoinjerto o de trastornos inflamatorios o autoinmunitarios, o un agente quimioterapéutico, por ejemplo un agente antiproliferativo de células malignas. Por ejemplo, los anticuerpos de acuerdo con la divulgación se pueden utilizar en combinación con un inhibidor de calcineurina, por ejemplo ciclosporina A o FK 506; un inhibidor de mTOR, por ejemplo rapamicina, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina, CCI779, ABT578, AP23573, AP23464, AP23675, AP23841, TAFA-93, biolimus-7 o biolimus-9; una ascomicina que tenga propiedades inmunosupresoras, por ejemplo ABT-281, ASM981, etc.; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; leflunomida; mizoribina; ácido micofenólico o una sal; micofenolato-mofetil; 15-desoxiespergualina o un homólogo, análogo, o derivado inmunosupresor de la misma; un inhibidor de PKC, por ejemplo como se desvela en los documentos WO 02/38561 o WO 03/82859, por ejemplo el compuesto del Ejemplo 56 o 70; un inhibidor de la cinasa JAK3, por ejemplo N-bencil-3,4-dihidroxibenciliden-cianoacetamida, α -ciano-(3,4-dihidroxi)-[N-bencilcinamamida (Tirfostina AG 490), prodigiosina 25-C (PNU156804), [4-(4'-hidroxifenil)-amino-6,7-dimetoxiquinazolina] (WHI-P131), [4-(3'-bromo-4'-hidroxifenil)-amino-6,7-dimetoxiquinazolina] (WHI-P154), [4-(3',5'-dibromo-4'-hidroxifenil)-amino-6,7-dimetoxi-quinazolina] WHI-P97, KRX-211, 3-{{(3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrol-2,3-d)-pirimidin-4-il]-amino}-piperidin-1-il}-3-oxopropionitrilo, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo el monocitrato (también denominado como CP-690.550), o un compuesto tal como se desvela en los documentos WO 04/052359 o WO 05/066156; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, por ejemplo anticuerpos monoclonales para los receptores de leucocitos, por ejemplo MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD52, CD58, CD80, CD86 o sus ligandos; otros compuestos inmunomoduladores, por ejemplo una molécula unión recombinante que tenga al menos una porción del dominio extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo, por ejemplo al menos una porción extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo, unida a una secuencia de proteína que no sea de CTLA4, por ejemplo CTLA4Ig (por ejemplo, designada como ATCC 68629), o un mutante de la misma, por ejemplo LEA29Y; inhibidores de moléculas de adhesión, por ejemplo antagonistas de LFA-1, antagonistas de ICAM-1 o -3, antagonistas de VCAM-4, o antagonistas de VLA-4; o un agente quimioterapéutico, por ejemplo paclitaxel, gemcitabina, cisplatino, doxorubicina, o 5-fluorouracilo; o un agente antiinfeccioso. Los fármacos inmunomoduladores que son susceptibles para ser útiles en combinación con un compuesto de la presente divulgación incluyen, por ejemplo:

- mediadores, por ejemplo inhibidores, de la actividad de mTOR, incluyendo la rapamicina de la fórmula



y derivados de rapamicina, por ejemplo, incluyendo:

- 5 derivados de 40-O-alkil-rapamicina, tales como derivados de 40-O-hidroxi-alkil-rapamicina, tales como 40-O-(2-hidroxi)-etil-rapamicina (everolimus),
- derivados de 32-desoxi-rapamicina y derivados de 32-hidroxi-rapamicina, tales como 32-desoxo-rapamicina,
- derivados de rapamicina 16-O-sustituída, tales como 16-pent-2-iniloxi-32-desoxo-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32-(S o R)-dihidro-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S o R)-dihidro-40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina,
- 10 derivados de rapamicina que están acilados en el grupo de oxígeno en la posición 40, por ejemplo 40-[3-hidroxi-2-(hidroxi-metil)-2-metil-propanoato]-rapamicina (también conocida como CCI779),
- derivados de rapamicina que están sustituidos en la posición 40 por heterociclilo, por ejemplo 40-epi-(tetrazolil)-rapamicina (también conocida como ABT578),
- los denominados como rapálogos, por ejemplo como se dan a conocer en las Publicaciones Internacionales Números WO9802441, WO0114387 y WO0364383, tales como AP23573, y
- 15 los compuestos que se desvelan bajo el nombre TAFA-93 y biolimus (biolimus A9).

En la presente descripción, los términos “tratamiento” o “tratar” se refieren al tratamiento tanto profiláctico como preventivo, así como al tratamiento curativo o modificador de la enfermedad, incluyendo el tratamiento del paciente en riesgo de contraer la enfermedad, o del que se sospecha que ha contraído la enfermedad, así como de pacientes que estén enfermos o que hayan sido diagnosticados por padecer una enfermedad o condición médica, e incluye la supresión de la recurrencia clínica. Un tratamiento de éxito de acuerdo con la invención también incluye las remisiones de todos los síntomas reparables, pero no las remisiones de los síntomas irreparables. Por ejemplo, uno de los síntomas de Muckle-Wells es la sordera nerviosa progresiva que normalmente es irreparable, y por lo tanto, no hay expectativa alguna de que este síntoma se pueda tratar. Sin embargo, otros síntomas reparables de Muckle-Wells, tales como irritación de la piel, fiebre con dolor muscular, fatiga y conjuntivitis, pueden desaparecer completamente con un tratamiento de éxito de acuerdo con la invención. Otra medida de un tratamiento de éxito es la disminución de los biomarcadores relevantes para los síndromes autoinflamatorios, por ejemplo Muckle-Wells, es decir, la disminución de la proteína amiloide de suero (SAA), y de la proteína C-reactiva (CRP) hasta el intervalo normal, es decir, <10 miligramos por litro de suero, en los pacientes.

En la presente descripción, la enfermedad de “Muckle-Wells” se determina entre otras (patología molecular) de acuerdo con sus síntomas clínicos, que son episodios inflamatorios febriles agudos de artritis y urticaria, sordera nerviosa progresiva, y opcionalmente amiloidosis de múltiples órganos a largo plazo (en aproximadamente el 25 % de los casos). La patología molecular es causada por una o varias mutaciones en el gen MEFV, localizado sobre el cromosoma 16p13, que codifica la proteína denominada pirina.

Las moléculas de unión a IL-1 β , tal como se definen anteriormente, en particular las moléculas de unión a IL-1 β de acuerdo con el primer y segundo aspecto de la invención; los anticuerpos que tienen especificidad de unión para el

epítopo antigénico de la IL-1 β humana madura que incluye el bucle que comprende Glu 64, en particular los anticuerpos que son capaces de inhibir la unión de IL-1 β con su receptor; y los anticuerpos para IL-1 β que tienen una K_D para la unión con IL-1 β de aproximadamente 10 nM, 1 nM, preferentemente 100 pM, más preferentemente 50 pM o menos, son citan en el presente documento como los anticuerpos de la divulgación.

- 5 En otra realización más de la invención, los usos adicionales de los compuestos de IL-1 beta, por ejemplo los anticuerpos de la Invención, son tal como sigue:

10 La prevención y el tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino (EII), artritis juvenil, artritis reactiva, espondilitis anquilosante, síndrome coronario, reestenosis arterial, fibrosis quística, enfermedad de Alzheimer, mieloma múltiple, arteriosclerosis, fibrosis pulmonar, Muckle-Wells y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

15 Para todas las indicaciones desveladas en el presente documento en esta descripción (indicaciones de la divulgación), la dosificación apropiada, desde luego, variará dependiendo, por ejemplo, de los compuestos de IL-1 β particulares, por ejemplo del anticuerpo de la divulgación que se vaya a emplear, del hospedador, del modo de administración, y de la naturaleza y gravedad de la afección que se esté tratando. Sin embargo, en el uso profiláctico, en general se indica que se obtienen resultados satisfactorios en dosificaciones de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal, más usualmente de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 5 mg por kilogramo de peso corporal. El anticuerpo de la divulgación se administra de manera conveniente por vía parenteral, intravenosa, por ejemplo en la vena antecubital u otra vena periférica, intramuscular, o subcutánea.

20 En otra realización más, la invención trata de una frecuencia sorprendente de dosificación para los usos terapéuticos, es decir, la pauta de tratamiento con los compuestos de IL-1 beta, preferentemente los anticuerpos de IL-1 beta, más preferentemente ACZ885 (en una dosis típica, por ejemplo, de entre aproximadamente 0,1 mg y aproximadamente 50 mg, más preferentemente de entre 0,5 mg y 20 mg, y aún más preferentemente de entre 1 mg y 10 mg de ACZ885 por kg de peso corporal del paciente), puede ser una vez a la semana o con menos frecuencia, más preferentemente una vez cada 2 semanas o con menos frecuencia, lo más preferentemente una vez cada 3 semanas o con menos frecuencia, aún más preferentemente una vez cada mes o con menos frecuencia, más preferentemente una vez cada 2 meses o con menos frecuencia, más preferentemente una vez cada 3 meses o con menos frecuencia, aún más preferentemente una vez cada 4 meses o con menos frecuencia, aún más preferentemente una vez cada 5 meses o con menos frecuencia, o aún mucho más preferentemente una vez cada 6 meses o con menos frecuencia. Lo más preferente es una vez al mes.

35 Las composiciones farmacéuticas de la divulgación se pueden fabricar de una manera convencional. Una composición de acuerdo con la divulgación se proporciona en una forma liofilizada. Para la administración inmediata, se disuelve en un vehículo acuoso adecuado, por ejemplo agua estéril para inyección o solución salina fisiológica tamponada estéril. Si se considera recomendable formar una solución de un volumen mayor para administración mediante infusión en lugar de hacerlo como una inyección de bolo, es conveniente incorporar albúmina de suero humano o la propia sangre heparinizada del paciente en la solución salina en el momento de la formulación. La presencia de un exceso de esta proteína fisiológicamente inerte previene la pérdida del anticuerpo por la adsorción sobre las paredes del recipiente y el tubo utilizados con la solución para infusión. Si se utiliza albúmina, una concentración adecuada es del 0,5 al 4,5 % en peso de la solución salina.

40 La invención se describe adicionalmente a modo de ilustración en los siguientes Ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1: ACZ885

45 La estructura y elaboración de ACZ885 se describen, por ejemplo, en el documento WO 02/16436. En resumen, las secuencias de amino terminal de los dominios variables de cadena pesada y ligera, y las secuencias de ADN correspondientes, se dan en las SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:2 a continuación, en donde se muestran las CDR en *cursiva* y subrayadas.

ES 2 662 420 T3

Región variable de cadena pesada de ACZ885 - SEQ ID NO:1.

```

TCAG
Q - 1

GTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCC
V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S - 21

TGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGTGTTATGGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCA
C A A S G F T F S V Y G M N W V R Q A P - 41

GGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATTTGGTATGATGGAGATAATCAATACTATGCA
G K G L E W V A I I W Y D G D N Q Y Y A - 61

GACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTG
D S V K G R F T I S R D N Ş K N T L Y L - 81

CAAATGAACGGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGAGAGATCTTAGG
Q M N G L R A E D T A V Y Y C A R D L R - 101

ACTGGGCCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC
T G P F D Y W G Q G T L V T V S S 118
    
```

Región variable de cadena ligera de ACZ885 - SEQ ID NO:2.

```

TGAA
E - 1

ATTGTGCTGACTCAGTCTCCAGACTTTTCAGTCTGTGACTCCAAAGGAGAAAGTCACCATC
I V L T Q S P D F Q S V T P K E K V T I - 21

ACCTGCCGGGCCAGTCAGAGCATTTGGTAGTAGCTTACACTGGTACCAGCAGAAACCAGAT
T C R A S Q S I G S S L H W Y Q Q K P D - 41

CAGTCTCCAAAGCTCCTCATCAAGTATGCTTCCCAGTCTTCTCAGGGGTCCCCTCGAGG
Q S P K L L I K Y A S Q S F S G V P S R - 61

TTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCCACCTCACCATCAATAGCCTGGAAGCTGAA
F S G S G S G T D F T L T I N S L E A E - 81

GATGCTGCAGCGTATTACTGTATCAGAGTAGTAGTTTACCATTCACTTTCCGGCCCTGGG
D A A A Y Y C H Q S S S L P F T F G P G - 101

ACCAAAGTGGATATCAAA - 107
T K V D I K
    
```

5 Ejemplo 2: Datos Bioquímicos y Biológicos de ACZ885

Se ha descubierto que el anticuerpo monoclonal ACZ 885 neutraliza la actividad de la interleucina-1 β in vitro. El anticuerpo monoclonal se caracteriza adicionalmente por su unión a la IL-1 β humana recombinante, mediante un análisis de resonancia de plasmón superficial. El modo de neutralización se evalúa mediante estudios de unión competitiva con receptores de IL-1 solubles. La actividad biológica del anticuerpo ACZ885 hacia la IL-1 β recombinante y producida de manera natural se determina en células humanas primarias que responden al estímulo mediante IL-1 β .

Determinación de la constante de equilibrio de disociación.

Las constantes de índice de la tasa de asociación y disociación para la unión de la IL-1 beta humana recombinante con ACZ885 se determinan mediante un análisis de resonancia de plasmón superficial. ACZ885 se inmoviliza, y se mide la unión de la IL-1 beta recombinante en un intervalo de concentración de 1 a 4 nM, mediante resonancia de plasmón superficial. El formato seleccionado representa una interacción monovalente, y por lo tanto, permite tratar el evento de unión de IL-1 beta con ACZ885 de acuerdo con una estequiometría de 1:1. El análisis de los datos se lleva a cabo utilizando el software BIAevaluation.

	K_{on} [10 ⁵ /Ms]	K_{off} [10 ⁻⁵ /s]	K_D [pM]	
ACZ885	11,0 +/- 0,23	3,3 +/- 0,27	30,5 +/- 2,6	n=22

Conclusión: ACZ885 se une a la IL-1 beta humana recombinante con una afinidad muy alta.

Ejemplo 3: Estudio clínico con ACZ885

5 Con el objeto de evaluar la idoneidad de un compuesto de IL-1 beta, por ejemplo ACZ885, se efectúa un estudio abierto, unicéntrico de titulación de dosis de ACZ885 (anticuerpo monoclonal anti-IL-1 beta humano) para evaluar la eficacia clínica, la seguridad, la farmacocinética y la farmacodinámica en los pacientes con síndrome de MW, caracterizado por mutaciones de NAPL3.

10 Los pacientes se tratan mediante una infusión de una sola dosis de ACZ885 (10 mg/kg por vía intravenosa). La respuesta clínica se mide por la mejora de los síntomas (por ejemplo, irritación de la piel, dolor muscular, fiebre, fatiga), y por la disminución de las proteínas en fase aguda, la proteína amiloide de suero (SAA) y la proteína c-reactiva (CRP). Además, se evalúa la respuesta al tratamiento mediante el análisis del ARNm obtenido a partir de las células de la sangre periférica. Se da un segundo tratamiento (1 mg/kg por vía intravenosa) después de la reaparición de los síntomas clínicos. Resultados: Remisión clínica de los síntomas (fiebre, irritación, conjuntivitis) dentro de 3 días, y disminución de CRP y SAA hasta el intervalo normal (<10 mg/l) en los pacientes. La remisión clínica de los síntomas con la primera infusión dura al menos 134 días, típicamente entre 160 y 200 días. Después del segundo tratamiento con una dosis más baja, los pacientes responden con una mejora de los síntomas y la normalización de las proteínas en fase aguda.

20 El análisis del ARNm obtenido a partir de las células de la sangre periférica demuestra la disminución de la transcripción de IL-1 β y de los genes inducidos por IL-1 β dentro de 24 horas después del tratamiento con ACZ885. Esto sugiere que ACZ885 es capaz de interrumpir un bucle de retroalimentación positiva in vivo, lo cual lleva a una sobreproducción autosostenida de IL-1 β en estos pacientes. Esta contención también es apoyada por la caracterización inicial de los efectos de PK/PD del ACZ885, que demuestra el bloqueo de la producción de IL-1 β después del tratamiento con ACZ885 en estos pacientes. Esta capacidad particular de ACZ885 puede contribuir (puede ser causal) para su efecto clínico de larga duración.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un medicamento para su uso en el tratamiento de poliserositis familiar recurrente, el medicamento que comprende un anticuerpo de unión a IL-1 beta humana, el anticuepro que comprende dominios variables tanto de cadena pesada (VH) como de cadena ligera (VL) en los que dicho anticuerpo de unión a IL-1 beta comprende al menos un sitio de unión a antígeno que comprende: un primer dominio que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se muestra en la SEQ ID NO:1 y un segundo dominio que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se muestra en la SEQ ID NO:2, y en donde dicho anticuerpo se administra por vía parenteral a una dosis entre 0,1-50 mg de dicho anticuerpo por kg de peso corporal del paciente.
2. Un medicamento para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo es ACZ885.
- 10 3. Un medicamento para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho anticuerpo se administra a una dosis entre 0,5-20 mg de dicho anticuerpo por kg de peso corporal del paciente.
4. Un medicamento para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho anticuerpo se administra a una dosis entre 1-10 mg de dicho anticuerpo por kg de peso corporal del paciente.
- 15 5. Un medicamento para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho anticuerpo se administra una vez a la semana o con menos frecuencia.
6. Un medicamento para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo se administra una vez al mes o con menos frecuencia.
7. Un medicamento para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha molécula de anticuerpo se administra al paciente por vía subcutánea.
- 20 8. Un medicamento para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde dicho anticuerpo se administra al paciente por vía intravenosa.
9. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 para su uso en el tratamiento de poliserositis familiar recurrente y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, y n donde dicho anticuerpo se administra por vía parenteral.