

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 774**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61P 19/02** (2006.01)

**A61P 19/00** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.06.2011 PCT/US2011/040819**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.12.2011 WO11159976**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.06.2011 E 11796483 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2018 EP 2582391**

54 Título: **Tratamiento para la artritis**

30 Prioridad:

**18.06.2010 US 356176 P**

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

**12.03.2019**

73 Titular/es:

**XBIOTECH, INC (100.0%)  
1055 West Hastings Street, Suite 300  
Vancouver, British Columbia V6E 2E9, CA**

72 Inventor/es:

**SIMARD, JOHN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 703 774 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 para la artritis

**Campo de la invención**

5 La invención se refiere en general a los campos de la inmunología, inflamación, artritis y medicina. Más especialmente, la invención se refiere al uso de anticuerpos (Ab) que se unen específicamente a la interleucina-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) para tratar uno o más síntomas de la artritis.

**Antecedentes**

10 La artritis, la causa más común de incapacidad en los Estados Unidos, es un conjunto de diferentes afecciones tales como la osteoartritis, artritis reumatoide, gota, artritis psoriática, artritis séptica y artritis reactiva. Todos los tipos de artritis se caracterizan por inflamación articular que provoca dolor, hinchazón, enrojecimiento y calor en el sitio afectado. Debido a que los sujetos tienen menos movilidad debido al dolor y la rigidez, la artritis puede conllevar indirectamente obesidad, colesterol elevado y/o cardiopatía. La artritis también puede provocar una enfermedad extraarticular tal como la iritis, uveítis, úlceras orales, inflamación del tubo gastrointestinal, inflamación de los conductos genitourinarios y lesiones en la piel.

15 Para la mayoría de los tipos de artritis, no existe cura y el tratamiento es principalmente sintomático, por ejemplo, administración de fármacos analgésicos y antiinflamatorios. Se pueden utilizar fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) para reducir la inflamación y el dolor. Aunque de manera general son eficaces, los AINE pueden provocar efectos secundarios tales como dolor abdominal, hemorragias, úlceras y daño hepático y renal. Los corticoesteroides son eficaces para reducir la inflamación y daño articular, pero pueden provocar varios efectos secundarios que también están asociados que incluyen hematomas, ganancia de peso, cataratas, pérdida de masa ósea, diabetes e hipertensión. Otros fármacos utilizados normalmente para tratar la artritis son el metotrexato, ciclosporina, ciclofosfamida, leflunomida, hidroxicloroquina, sulfasalazina y minociclina. Estos también pueden provocar efectos secundarios tales como daño hepático e inmunosupresión. Los inhibidores del factor de necrosis tumoral (TNF, por sus siglas en inglés) como etanercept (Enbrel), infliximab (Remicade) y adalimumab (Humira) también son útiles para tratar la artritis. Los efectos secundarios de los inhibidores de TNF incluyen reacciones en el sitio de la inyección, insuficiencia cardíaca, linfoma y mayor riesgo de infección.

20 El documento WO2010/030979 se basa en el descubrimiento de que la interleucina-1 alfa (IL-1 alfa) se expresa en el subconjunto de monocitos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> proinflamatorios. Los inventores consideraron que como IL-1 alfa parece estar expresada casi de forma exclusiva en este subconjunto de monocitos y no en otros leucocitos, representa un marcador ideal para actuar sobre el subconjunto de monocitos CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>. El documento WO2007/120828 describe el uso de compuestos que alteran la interacción del receptor de IL-1 para el tratamiento y/o prevención de enfermedades o trastornos oftálmicos en mamíferos, en particular seres humanos. Lubberts *et al.* (*Arthritis and Rheumatism* (2004) 50 (2); 650-9) describen el uso de un anticuerpo neutralizante contra IL-17 en el tratamiento de la artritis inducida por colágeno en ratones. Miossec (*Annals of the rheumatic diseases* (2002) 61(7); 577-579) analiza autoanticuerpos anti-IL-1 $\alpha$ . Garrone *et al.* (*Molecular Immunology* (1996) 33(7-8); 649-58) describen la generación y caracterización de un autoanticuerpo monoclonal humano que actúa como un inhibidor específico respecto a IL-1 $\alpha$  con afinidad elevada. En el documento US2009/298096 se describen Ab monoclonales totalmente humanos que incluyen (i) una región variable de unión al antígeno que muestra una afinidad de unión muy elevada por IL-1 $\alpha$  y (ii) una región constante que es eficaz para activar el sistema del complemento mediante la unión a C1q y la unión a varios receptores de Fc diferentes.

**Compendio**

25 La invención se basa en el descubrimiento de que la administración de un anticuerpo (Ab) que tiene como diana específicamente IL-1 $\alpha$  en un sujeto humano que padece artritis reduce el número de monocitos CD14<sup>+</sup>IL-1 $\alpha$ <sup>+</sup> de la sangre periférica en el sujeto y mejora notablemente la inflamación tanto en sitios articulares como extraarticulares; todo ello sin ningún efecto secundario aparte de dolor en el sitio de administración.

30 En consecuencia, la invención presenta un anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  para su uso en un método para reducir el dolor y la rigidez articulares asociados con la artritis en un sujeto humano que padece artritis, donde dicho anticuerpo reduce el número de monocitos CD14<sup>+</sup>IL-1 $\alpha$ <sup>+</sup> de la sangre periférica en el sujeto y mejora notablemente la inflamación tanto en los sitios articulares como extraarticulares. La presente divulgación también describe un método para tratar una patología inflamatoria asociada con la artritis en un sujeto humano administrando al sujeto una composición farmacéutica que incluye un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad de anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  eficaz para reducir al menos un síntoma de la patología inflamatoria en el sujeto. El síntoma puede ser inflamación articular tal como de la muñeca o el hombro, o inflamación ocular tal como uveítis. El anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  puede ser un anticuerpo monoclonal tal como IgG1. El anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  puede ser el anticuerpo monoclonal denominado mABp1 o un anticuerpo monoclonal que incluya una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR,

por sus siglas en inglés) de MABp1.

La composición farmacéutica se puede administrar al sujeto mediante inyección, por vía subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraocular o directamente en una articulación inflamada. El anticuerpo también se puede administrar al ojo por vía tópica. En el método descrito, la cantidad del anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  eficaz para reducir al menos un síntoma de la patología inflamatoria en el sujeto puede ser suficiente para elevar la concentración en la sangre periférica del sujeto del anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  hasta al menos 4  $\mu$ g/mL; y/o suficiente para disminuir el número de monocitos CD14<sup>+</sup>IL-1 $\alpha$ <sup>+</sup> de la sangre periférica del sujeto en al menos un 5%.

El método descrito también puede incluir un paso de medida del número de monocitos CD14<sup>+</sup>IL-1 $\alpha$ <sup>+</sup> en la sangre periférica del sujeto después de la administración de la composición farmacéutica, por ejemplo, cuando el paso de medida del número de monocitos CD14<sup>+</sup>IL-1 $\alpha$ <sup>+</sup> en la sangre periférica del sujeto se realiza en al menos dos puntos temporales diferentes después de la administración de la composición farmacéutica.

La divulgación también describe un método que induce la vacuolización de monocitos en un sujeto administrando al sujeto una composición farmacéutica que incluye un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad de un anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  eficaz para inducir la formación de vacuolas en monocitos.

A menos que se definan de otra manera, todos los términos técnicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto en la técnica a la que esta invención pertenece. Las definiciones, según se entienden habitualmente, de los términos biológicos se pueden consultar en Rieger *et al.*, Glossary of Genetics: Classical and Molecular, 5.<sup>a</sup> edición, Springer-Verlag: Nueva York, 1991; y Lewin, Genes V, Oxford University Press: Nueva York, 1994. Las definiciones, según se entienden habitualmente, de los términos médicos se pueden consultar en Stedman's Medical Dictionary, 27.<sup>a</sup> Edición, Lippincott, Williams & Wilkins, 2000.

Tal como se utiliza en la presente, un "anticuerpo" o "Ab" es una inmunoglobulina (Ig), una solución de Ig idénticas o heterogéneas, o una mezcla de Ig. Un "anticuerpo" también se puede referir a fragmentos de versiones modificadas de Ig tales como fragmentos Fab, Fab' y F(ab')<sub>2</sub>; y scFv, Ab heteroconjugados y moléculas artificiales similares que emplean CDR procedentes de Ig para conferir especificidad respecto al antígeno. Un "anticuerpo monoclonal" o "mAb" es un Ab expresado por una línea clonal de linfocitos B o una población de moléculas de tipo Ab que contiene únicamente una especie de un sitio de unión al antígeno capaz de inmunorreactar con un epítipo particular de un antígeno particular. Un "anticuerpo policlonal" o "Ab policlonal" es una mezcla de Ab heterogéneos. Normalmente, un Ab policlonal incluirá infinidad de moléculas de tipo Ab diferentes que se unen a un antígeno particular donde al menos algunos de los diferentes Ab inmunorreactan con un epítipo diferente del antígeno. Tal como se utiliza en la presente, un Ab policlonal puede ser una mezcla de dos o más mAb.

Una "porción de unión al antígeno" de un Ab está contenida en la región variable de una porción Fab de un Ab y es una porción del Ab que confiere especificidad respecto al antígeno al Ab (es decir, normalmente la cavidad tridimensional formada por las CDR de las cadenas pesada y ligera del Ab). Una "porción Fab" o "región Fab" es el fragmento proteolítico de una Ig digerida con papaína que contiene la porción de unión al antígeno de esa Ig. Una "porción no Fab" es una porción de un Ab que no está en la porción Fab, por ejemplo, una "porción Fc" o "región Fc". Una "región constante" de un Ab es esa porción del Ab fuera de la región variable. Por lo general, la "porción efectora" de un Ab, que es la porción de un Ab que es responsable de la unión a otros componentes del sistema inmunitario que facilita la respuesta inmunitaria, está comprendida en la región constante. Por lo tanto, por ejemplo, el sitio de un Ab que se une a los componentes del complemento o los receptores de Fc (no mediante su porción de unión al antígeno) es una porción efectora de ese Ab.

Cuando se hace referencia a una molécula proteica tal como un Ab, el adjetivo "purificado" significa que está separado de los componentes que acompañan de manera natural a tales moléculas. Normalmente, un Ab o proteína está purificado cuando está al menos aproximadamente un 10% (por ejemplo, 9%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.9% y un 100%), en peso, exento de proteínas que no son Ab u otras moléculas orgánicas de origen natural con las que está asociado de manera natural. La pureza se puede medir mediante cualquier método apropiado, por ejemplo, cromatografía en columna, electroforesis en gel de poliacrilamida o análisis por HPLC. Una proteína sintetizada químicamente u otra proteína recombinante producida en un tipo celular que no es el tipo celular en el que ocurre de manera natural está "purificada".

Los términos "unir", "une" o "reacciona con" significan que una molécula reconoce una segunda molécula particular en una muestra y se adhiere a ella, pero sustancialmente no reconoce otras moléculas en la muestra ni se adhiere a ellas. Por lo general, un Ab que "se une específicamente" a otra molécula tiene una K<sub>d</sub> superior a aproximadamente 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup>, 10<sup>8</sup>, 10<sup>9</sup>, 10<sup>10</sup>, 10<sup>11</sup> o 10<sup>12</sup> litros/mol por esa otra molécula.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" es una cantidad que es capaz de producir un efecto deseable desde un punto de vista médico en un animal o ser humano tratado (por ejemplo, mejora o prevención de una enfermedad o síntoma de una enfermedad).

Aunque se pueden utilizar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente al llevar a la

práctica o evaluar la presente invención, se describen a continuación métodos y materiales adecuados. Además, las realizaciones particulares descritas a continuación solamente son ilustrativas y no pretenden ser limitantes.

### Descripción breve de los dibujos

5 La Figura 1 es un gráfico y una tabla que muestran la farmacocinética de MABp1 después de la administración a un sujeto humano con artritis reactiva.

La Figura 2 es una serie de gráficos que muestran análisis de sangre por citometría de flujo después de la administración de MABp1 a un sujeto humano con artritis reactiva.

La Figura 3 es una serie de gráficos que muestran análisis de sangre por citometría de flujo después de la administración de MABp1 a un ser humano con artritis reactiva.

### 10 Descripción detallada

La invención engloba composiciones para su uso en métodos para tratar un síntoma o proceso patológico asociado con la artritis en un sujeto. Las realizaciones preferidas descritas a continuación ilustran la adaptación de estas composiciones y métodos. No obstante, a partir de la descripción de estas realizaciones, se pueden realizar y/o llevar a la práctica otros aspectos de la invención en función de la descripción que se proporciona a continuación.

### 15 Metodología general

En la presente se describen métodos que implican técnicas inmunológicas y de biología molecular convencionales. En general, los métodos inmunológicos (por ejemplo, ensayos para detectar y localizar complejos antígeno-Ab, inmunoprecipitación, inmunotransferencia y similares) son conocidos en la técnica y se describen en tratados metodológicos tales como *Current Protocols in Immunology*, Coligan *et al.*, ed., John Wiley & Sons, Nueva York. Se describen técnicas de biología molecular en detalle en tratados tales como *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2.<sup>a</sup> ed., vol. 1-3, Sambrook *et al.*, ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001; y *Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel *et al.*, ed., Greene Publishing y Wiley-Interscience, Nueva York. Se describen métodos de Ab en *Handbook of Therapeutic Abs*, Dubel, S., ed., Wiley-VCH, 2007. Se describen métodos generales de tratamiento médico en McPhee y Papadakis, *Current Medical Diagnosis and Treatment 2010*, 49.<sup>a</sup> Edición, McGraw-Hill Medical, 2010; y Fauci *et al.*, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17.<sup>a</sup> Edición, McGraw-Hill Professional, 2008.

Tratamientos de síntomas de la artritis

30 Las composiciones y métodos descritos en la presente son útiles para tratar una patología inflamatoria asociada con la artritis en un sujeto mamífero administrando al sujeto una composición farmacéutica que incluya una cantidad de un anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  eficaz para reducir al menos un síntoma de la patología inflamatoria en el sujeto. El sujeto mamífero puede ser cualquiera que padezca artritis incluidos seres humanos, perros, gatos, caballos, ganado, ovejas, cabras y cerdos. Los sujetos humanos pueden ser hombres, mujeres, adultos, niños, ancianos (65 y mayores) y aquellos con otras enfermedades. El síntoma o proceso patológico asociado con artritis particular puede ser la inflamación, dolor, rigidez o degeneración de una articulación (por ejemplo, en la muñeca, dedos [articulaciones metacarpianas o metatarsales], codos, hombros, caderas, rodillas, tobillos, pies, cuello o espalda) o tejido extraarticular (por ejemplo, iritis, uveítis, úlceras orales, inflamación del tubo gastrointestinal, inflamación de las vías genitourinarias o lesiones de la piel).

Anticuerpos y otros agentes que tienen como diana IL-1 $\alpha$

40 Cualquier tipo adecuado de Ab que se una específicamente a IL-1 $\alpha$  y reduzca un síntoma o proceso patológico provocado por la artritis en un sujeto se puede utilizar en la invención. Por ejemplo, el Ab anti-IL-1 $\alpha$  puede ser mAb, un Ab policlonal, una mezcla de mAb, o un fragmento de Ab o moléculas similares a Ab modificadas tales como un scFv. El Ka del Ab es preferentemente al menos  $1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$  o superior (por ejemplo, superior a  $9 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ ,  $8 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ ,  $7 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ ,  $6 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ ,  $4 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ ,  $3 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ ,  $2 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$  o  $1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ ). En una realización preferida, la invención utiliza un mAb totalmente humano que incluye (i) una región variable de unión al antígeno que muestra una afinidad de unión muy elevada por IL-1 $\alpha$  humana y (ii) una región constante que es eficaz tanto para activar el sistema del complemento mediante la unión a C1q como la unión a varios receptores de Fc diferentes. El Ab humano es preferentemente una IgG1, aunque puede ser de un isotipo diferente tal como IgM, IgA o IgE, o subclase tal como IgG2, IgG3 o IgG4. Un ejemplo de un mAb especialmente útil es MABp1, un anticuerpo monoclonal de tipo IgG1 específico para IL-1 $\alpha$  descrito en la solicitud de patente de EE. UU. número de serie 12/455 458, presentada el 1 de junio de 2009, publicada como US2012/015384. Otros mAb útiles son aquellos que incluyen al menos una, pero preferentemente todas, CDR de MABp1.

Debido a que los linfocitos B que expresan Ig específicas para IL-1 $\alpha$  humana se producen de manera natural en los seres humanos, un método preferido en la actualidad para generar mAb es aislar en primer lugar un linfocito B de

este tipo a partir de un sujeto y después inmortalizarlo de manera que se pueda replicar de manera continua en un cultivo. Los sujetos que carecen de números elevados de linfocitos B de origen natural que expresan Ig específicas para IL-1 $\alpha$  humana se pueden inmunizar con uno o más antígenos de IL-1 $\alpha$  humana para incrementar el número de tales linfocitos B. Los mAb humanos se preparan inmortalizando una célula secretora de Ab humanos (por ejemplo, una célula plasmática humana). Remítase, por ejemplo, a la patente de EE. UU. n.º 4 634 664.

En un método ilustrativo, uno o más (por ejemplo, 5, 10, 25, 50, 100, 1000 o más) sujetos humanos se criban para detectar la presencia de este tipo de Ab humanos específicos para IL-1 $\alpha$  en su sangre. Aquellos sujetos humanos que expresan el Ab deseado se pueden utilizar a continuación como donantes de linfocitos B. En un posible método, se obtiene sangre periférica de un donante humano que posee linfocitos B que expresan Ab específicos para IL-1 $\alpha$  humana. A continuación, se aíslan tales linfocitos B a partir de la muestra de sangre, por ejemplo, mediante clasificación celular (por ejemplo, clasificación celular activada por fluorescencia, "FACS", o clasificación celular con microesferas magnéticas) para seleccionar los linfocitos B que expresan Ig específica para IL-1 $\alpha$  humana. Estas células se pueden inmortalizar a continuación mediante transformación vírica (por ejemplo, utilizando EBV) o mediante fusión con otra célula inmortalizada tal como un mieloma humano de acuerdo con técnicas conocidas. Los linfocitos B en esta población que expresan Ig específica para IL-1 $\alpha$  humana se pueden aislar a continuación mediante métodos de dilución limitante (por ejemplo, las células en pocillos de una placa de microvaloración que son positivas para Ig específica para IL-1 $\alpha$  humana se seleccionan y subcultivan y el proceso se repite hasta que se puede aislar una línea clonal deseada). Remítase, por ejemplo, a Goding, *Monoclonal Abs: Principles and Practice*, págs. 59-103, Academic Press, 1986. Se prefieren aquellas líneas celulares clonales que expresan Ig que tiene al menos afinidades de unión nanomolares o picomolares por IL-1 $\alpha$  humana. Los MAb secretados por estas líneas celulares clonales se pueden purificar a partir del medio de cultivo o un fluido corporal (por ejemplo, ascitis) mediante procedimientos convencionales de purificación de Ig tales como cortes salinos, exclusión por tamaño, separación de intercambio iónico y cromatografía por afinidad.

Aunque se pueden utilizar linfocitos B inmortalizados en cultivos *in vitro* para producir directamente mAb, en ciertos casos puede ser deseable utilizar sistemas de expresión heterogénea para producir mAb. Remítase, por ejemplo, a los métodos descritos en la solicitud de patente de EE. UU. número 11/754 899, publicada como US 2008/0050310. Por ejemplo, los genes que codifican un mAb específico para IL-1 $\alpha$  humana se pueden clonar e introducir en un vector de expresión (por ejemplo, un vector de expresión basado en un plásmido) para la expresión en una célula hospedadora heteróloga (por ejemplo, células CHO, células COS, células de mieloma y células de *E. coli*). Debido a que las Ig incluyen cadenas pesadas (H) y ligeras (L) en una configuración H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>, los genes que codifican cada una se puede en aislar por separado y expresar en diferentes vectores.

Aunque por lo general se prefiere en menor medida debido a la mayor probabilidad de que un sujeto desarrolle una respuesta anti-Ab, en la invención se puede utilizar mAb quiméricos (por ejemplo, mAb "humanizados") que son moléculas de unión al antígeno que tienen diferentes porciones que proceden de diferentes especies animales (por ejemplo, la región variable de una Ig de ratón fusionada con la región constante de una Ig humana). Tales Ab quiméricos se pueden preparar mediante métodos conocidos en la técnica. Remítase, por ejemplo, a Morrison *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA*, 81:6851, 1984; Neuberger *et al.*, *Nature*, 312:604, 1984; Takeda *et al.*, *Nature*, 314:452, 1984. De manera similar, se pueden humanizar Ab mediante métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los Ab monoclonales con una especificidad de unión deseada pueden ser humanizados por varios proveedores comerciales o tal como se describe en las Pat. de EE. UU. N.ºs 5 693 762; 5 530 101; o 5 585 089.

Se puede madurar la afinidad de los mAb descritos en la presente para potenciar o alterar de otra manera sus especificidades de unión mediante métodos conocidos tales como el reordenamiento de los dominios VH y VL (Marks *et al. Bio/Technology* 10:779-783, 1992), mutagénesis aleatoria de las regiones hipervariables (HVR, por sus siglas en inglés) y/o residuos de armazón (Barbas *et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813, 1994; Schier *et al. Gene* 169:147-155, 1995; Yelton *et al. J. Immunol.* 155:1994-2004, 1995; Jackson *et al., J. Immunol.* 154(7):3310-9, 1995; y Hawkins *et al., J. Mol. Biol.* 226:889-896, 1992). Se pueden preparar variantes de la secuencia de aminoácidos de un Ab introduciendo cambios apropiados en la secuencia de nucleótidos que codifican el Ab. Además, se pueden alterar modificaciones en las secuencias de ácidos nucleicos que codifican mAb (por ejemplo, sin cambiar la secuencia aminoácidos del mAb) para mejorar la producción del mAb en ciertos sistemas de expresión (por ejemplo, eliminación de intrones y/u optimización de codones para un sistema de expresión concreto). Los mAb descritos en la presente también se pueden modificar por conjugación con otra proteína (por ejemplo, otro Ab) o molécula no proteica. Por ejemplo, se puede conjugar un mAb con un polímero hidrosoluble tal como polietilenglicol o un nanotubo de carbono (remítase, por ejemplo, a Kam *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605, 2005). Remítase a la solicitud de patente de EE. UU. número 11/754 899, publicada como US 2008/0050310.

Preferentemente, para garantizar que se puedan administrar títulos elevados de un mAb específico para IL-1 $\alpha$  humana a un sujeto con efectos adversos mínimos, las composiciones de mAb de la invención son puras en al menos un 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 99.9 por ciento en peso o más (excluidos cualesquiera excipientes). Las composiciones de mAb de la invención pueden incluir únicamente un tipo único de mAb (es decir, uno producido a partir de una única línea de linfocitos B

clonales) o pueden incluir una mezcla de dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) tipos diferentes de mAb.

5 Para modificar o potenciar su función, los mAb contra IL-1 $\alpha$  humana se pueden conjugar con otra molécula tal como una citotoxina. Se puede conjugar un mAb específico para IL-1 $\alpha$  humana con una o más citotoxinas para aniquilar de manera eficaz las células que expresan IL-1 $\alpha$ . Las citotoxinas para uso la invención pueden ser cualquier agente citotóxico (por ejemplo, una molécula que aniquila una célula después de entrar en contacto con la célula) que se pueden conjugar a un mAb específico para IL-1 $\alpha$  humana. Los ejemplos de citotoxinas incluyen, sin carácter limitante, radionúclidos (por ejemplo, <sup>35</sup>S, <sup>14</sup>C, <sup>32</sup>P, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>90</sup>Y, <sup>89</sup>Zr, <sup>201</sup>Tl, <sup>186</sup>Re, <sup>188</sup>Re, <sup>57</sup>Cu, <sup>213</sup>Bi y <sup>211</sup>At), radionúclidos conjugados y agentes quimioterápicos. Los ejemplos adicionales de citotoxinas incluyen, sin carácter limitante, antimetabolitos (por ejemplo, 5-fluorouracilo (5-FU), metotrexato (MTX), fludarabina, etc.), agentes anti-microtúbulos (por ejemplo, vincristina, vinblastina, colchicina, taxanos (tales como paclitaxel y docetaxel), etc.), agentes alquilantes (por ejemplo, ciclofosfamida, melfalán, biscloroetilnitrosurea (BCNU), etc.), agentes de platino (por ejemplo, cisplatino (también denominado cDDP), carboplatino, oxaliplatino, JM-216, CI-973, etc.), antraciclinas (por ejemplo, doxorubicina, daunorubicina, etc.), agentes antibióticos (por ejemplo, mitomicina-C), inhibidores de la topoisomerasa (por ejemplo, etopósido, tenopósido, y camptotecinas), u otros agentes citotóxicos tales como ricina, toxina diftérica (DT, por sus siglas en inglés), exotoxina de *Pseudomonas* (PE, por sus siglas en inglés) A, PE40, abrina, saporina, proteína vírica de *Phytolacca americana*, bromuro de etidio, glucocorticoides, toxina del ántrax y otras. Remítase, por ejemplo, a la Pat. de EE. UU. N.º 5 932 188.

20 Aunque para el uso de la invención se prefieren los Ab específicos para IL-1 $\alpha$  descritos anteriormente, en algunos casos se pueden utilizar otros agentes que tienen como diana específicamente IL-1 $\alpha$  siempre que su administración conlleve la mejora de uno o más síntomas de la artritis. Estos otros agentes pueden incluir moléculas orgánicas de bajo peso molecular, aptámeros, péptidos y proteínas que se unen específicamente a IL-1 $\alpha$ .

#### Composiciones farmacéuticas y métodos

25 Las composiciones de Ab anti-IL-1 $\alpha$  se pueden administrar a animales o seres humanos en portadores farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, solución salina estéril), que se seleccionan en función del modo y vía de administración y la práctica farmacéutica habitual. Se puede consultar una lista de portadores farmacéuticamente aceptables, así como también de formulaciones farmacéuticas, en Remington's Pharmaceutical Sciences, un texto de referencia en este campo y en USP/NF. Se pueden añadir otras sustancias a las composiciones y realizar otros pasos con el fin de estabilizar y/o conservar las composiciones, y/o facilitar su administración a un sujeto.

30 Por ejemplo, las composiciones de Ab pueden estar liofilizadas (remítase a Draber *et al.*, *J. Immunol. Methods*. 181:37, 1995; y el documento PCT/US90/01383); disueltas en una solución que incluya iones de sodio y cloruro; disueltas en una solución que incluya uno o más agentes estabilizantes tales como albúmina, glucosa, maltosa, sacarosa, sorbitol, polietilenglicol y glicina; filtradas (por ejemplo, utilizando un filtro de 0.45 y/o 0.2 micras); en contacto con beta-propiolactona; y/o disueltas en una solución que incluya un microbicida (por ejemplo, un detergente, un disolvente orgánico y una mezcla de un detergente y un disolvente orgánico).

35 Las composiciones de Ab se pueden administrar a animales o seres humanos mediante cualquier técnica adecuada. Normalmente, este tipo de administración será parenteral (por ejemplo, introducción intravenosa, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal). Las composiciones también se pueden administrar directamente al sitio diana (por ejemplo, una articulación inflamada o la úvea o conjuntiva) mediante, por ejemplo, inyección o aplicación tópica. En la técnica existe constancia de otros métodos de suministro, por ejemplo, suministro liposomal o difusión desde un dispositivo impregnado con la composición. La composición se puede administrar en un único bolo, múltiples inyecciones o mediante infusión continua (por ejemplo, por vía intravenosa o mediante diálisis peritoneal).

45 Una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que es capaz de producir un resultado deseable desde un punto de vista médico en un animal o ser humano tratado. Una cantidad eficaz de las composiciones de Ab anti-IL-1 $\alpha$  es una cantidad que muestra eficacia clínica en pacientes con artritis medida según la mejora en el dolor y la función así como también la prevención de daño estructural. Como es bien sabido en las técnicas médicas, la dosificación para un animal o ser humano depende de muchos factores, incluidos el tamaño del sujeto, área superficial corporal, edad, la composición concreta que se va a administrar, sexo, tiempo y vía de administración, salud general y otros fármacos que se están administrando simultáneamente. Una dosis preferida es una que es suficiente para elevar la concentración en la sangre periférica del sujeto del Ab anti-IL-1 $\alpha$  hasta al menos 4 (por ejemplo, al menos 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 2500 o 5000) microgramos/mL. Se espera que una dosificación apropiada de Ab estaría en el intervalo de aproximadamente 0.2 a 20 (por ejemplo, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 50 o 100) mg/kg de peso corporal para la administración subcutánea y de aproximadamente 0.001 a 50 (por ejemplo, 0.001, 0.01, 1, 5, 10, 15, 25 o 50) mg por ojo para la administración tópica en el ojo. La dosis se puede suministrar de manera repetida, por ejemplo, cada hora, a diario, semanalmente o mensualmente.

#### Ejemplos

## Ejemplo 1 - Xilonix™

Xilonix™ es una formulación líquida inyectable estéril de 15 mg/mL de MABp1 en un tampón isotónico estabilizante (pH 6.4). Cada vial de suero de vidrio de borosilicato de tipo I de 10 mL contiene 5 mL de la formulación y se sella con un tapón de caucho butílico Daikyo Flurotec de 20 mm y sello de aluminio Flip-Off. El producto se almacena a 5 ± 3 °C, con periodos permitidos a temperatura ambiente. A continuación se muestra la composición exacta del producto farmacológico:

<b>Composición del producto farmacológico (Xilonix™)</b>			
<b>Ingrediente</b>	<b>Grado</b>	<b>Proveedor</b>	<b>Concentración</b>
Anticuerpo MABp1	GMP	XBiotech	15 mg/mL
Fosfato de sodio dibásico	Compendial	JT Baker	12 mg/mL
Ácido cítrico monohidratado	Compendial	JT Baker	2 mg/mL
Trehalosa·2H <sub>2</sub> O (pureza elevada, contenido bajo de endotoxina)	Compendial	Ferro-Pfanstiehl	60 mg/mL
Polisorbato 80	Compendial	JT Baker	0.2 mg/mL
Ácido fosfórico, para ajustar el pH	Compendial	JT Baker	0.04 mg/mL
Agua para inyección	Compendial	Microbix	c.s.

## Ejemplo 2 – Tratamiento de la artritis reactiva con un anticuerpo monoclonal específico para IL-1α.

Se administró un total de 220 miligramos de MABp1, un anticuerpo monoclonal específico para IL-1α descrito en la solicitud de patente de EE. UU. con número de serie 12/455 458 presentada el 1 de junio de 2009, publicada como US2012/015384, a un paciente varón de 48 años de edad. El paciente tenía un historial prolongado de artritis reactiva, que comenzó a la edad de 16 cuando se le diagnosticó síndrome de Reiter durante una hospitalización debida a una inflamación grave en su rodilla izquierda. Esta inflamación se solucionó, sin embargo, el paciente experimentó recaídas periódicas en varias articulaciones hasta alrededor de los 25 años. No ocurrieron más episodios hasta que, a la edad de 35, el paciente presentó un episodio unilateral grave de uveítis que duró 8 semanas. La uveítis se trató de manera deficiente con corticosteroides oftálmicos y AINE orales, lo que dio como resultado un cierto grado de tejido cicatricial. Posteriormente, el paciente experimentó al menos tres episodios adicionales de uveítis de intensidad variable, requiriendo un episodio la inyección subcorneal de corticosteroides.

Justo antes de su 48.º cumpleaños, el paciente desarrolló dolor grave en su hombro y muñeca izquierdos. La muñeca se vio afectada por una hinchazón y enrojecimiento evidentes con una pérdida de movilidad casi completa. El paciente era incapaz de abducir su brazo izquierdo más de aproximadamente 20° debido al intenso dolor del hombro. Ese día, el paciente recibió una inyección subacromial de corticosteroides en el hombro izquierdo. El paciente señaló que el estado siguió empeorando y el dolor del hombro y la muñeca se volvieron continuos, lo que interrumpió el trabajo e impidió el sueño. Además, se produjeron dolor e irritación en el ojo izquierdo, lo que indicó el inicio de un episodio de uveítis. Según consta, esta fue la primera vez que se produjeron juntas la inflamación articular y la uveítis. El paciente estuvo tomando corticosteroides oftálmicos, y AINE oftálmicos tópicos y orales con, aparentemente, pocos resultados.

En el día 0 (cuarenta y dos días después de la inyección subacromial de corticosteroides), se administraron cuatro inyecciones subcutáneas de MABp1 al paciente, lo que suministró un total de 110 mg de MABp1 (en dosis iguales). No se notificaron efectos secundarios aparte de dolor durante la inyección. Se extrajo sangre por punción venosa justo después de la inyección en dos tubos de heparina sódica de 5 mL. El análisis del plasma utilizando un ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA) para detectar anticuerpos anti-IL-1α endógenos existentes reveló la ausencia de anticuerpos preexistentes.

En el día 1, el paciente notificó que se levantó esa mañana sin el dolor palpitante que se había convertido en la "primera sensación al despertarse". Durante los siguientes días hubo una mejora evidente en la movilidad. No se produjo induración o enrojecimiento en los sitios de inyección. Se llevó a cabo una extracción de sangre y se

realizó análisis por citometría de flujo (FACS) para evaluar los subconjuntos de leucocitos y expresión de IL-1 $\alpha$  en monocitos. También se realizó un análisis en el plasma para determinar los niveles de MABp1 y para comenzar la recogida de datos farmacocinéticos (PK) para MABp1. El análisis por FACS de PBMC reveló que la mayoría de los monocitos CD14<sup>+</sup> (72.6%) expresaban IL-1 $\alpha$ . Se observó una concentración plasmática de MABp1 de 3.2  $\mu$ g/mL.

5 En el día 6, se extrajo otra muestra de sangre y se analizó utilizando FACS para detectar MABp1. La frecuencia de monocitos CD14<sup>+</sup> teñidos por MABp1 había descendido hasta un 47.3%. Los niveles en plasma de MABp1 se habían incrementado hasta 7  $\mu$ g/mL. Aunque no se confirmó, el incremento en la concentración de MABp1 se consideró que reflejaba un efecto depósito de la administración subcutánea de MABp1. Aunque se había producido una mejora, el paciente aún mostraba una sensibilidad y dolor considerables con el movimiento y la uveítis se había recrudecido desde el fin de semana anterior, cuando el paciente había asistido a una fiesta y consumido alcohol. Se administraron otros 110 mg de MABp1 por vía subcutánea al paciente.

10 En el día 14, se extrajo una muestra de sangre, se analizó utilizando FACS y se realizó un análisis pK en el plasma. La frecuencia de monocitos CD14<sup>+</sup> teñidos por MABp1 descendió aún más hasta un 21.7%. Sin embargo, los niveles en plasma de MABp1 también descendieron hasta 5.8  $\mu$ g/mL. Esto fue algo imprevisto, ya que los niveles en plasma de MABp1 se habían incrementado durante la semana después de la primera inyección.

15 Aproximadamente un mes después de la primera inyección de MABp1 se reevaluó al paciente. Se observó una mejora notable en la movilidad y ausencia de dolor en la muñeca. El dolor en el hombro estuvo presente únicamente con una abducción hasta 90°. El análisis por FACS reveló ausencia de monocitos CD14<sup>+</sup> teñidos por MABp1 detectables. Los niveles en plasma de MABp1 descendieron hasta 1.6  $\mu$ g/mL, lo que sugiere una semivida de MABp1 de aproximadamente dos semanas.

20 A lo largo de las siguientes semanas, el paciente mostró una mejora gradual pero continua en la movilidad. Se produjo una resolución completa de la uveítis. Se observó la mejora aunque el paciente cesó el uso de todos los medicamentos después de la primera inyección de MABp1. Aproximadamente tres meses después de la primera inyección de MABp1, la frecuencia de monocitos CD14<sup>+</sup> teñidos por MABp1 había vuelto a los niveles anteriores al tratamiento. Los niveles de MABp1 en plasma descendieron hasta 0.07  $\mu$ g/mL. Sin embargo, el paciente siguió bien con una mejora continua en la movilidad del hombro.

Ejemplo 3 – Cribado de muestras plasmáticas para detectar el autoanticuerpo endógeno contra hIL-1A y farmacocinética de MABp1

30 Se desarrolló un método para el cribado de muestras plasmáticas para detectar el autoanticuerpo endógeno contra IL-1 $\alpha$  humana (hIL-1 $\alpha$ ) utilizando un ELISA directo. Este método también se utilizó para determinar la farmacocinética (pK) de MABp1 después de la administración, con la excepción de que se realizaron diluciones más elevadas de las muestras plasmáticas.

35 El ELISA directo conlleva recubrir con IL-1 $\alpha$  humana recombinante una microplaca de poliestireno. La IL-1A humana unida captura el anticuerpo endógeno anti-IL-1 $\alpha$  humana de las muestras de prueba. A continuación, se utiliza un anticuerpo de ratón anti-IgG humana, específico para Fc conjugado con HRP para detectar el anticuerpo endógeno anti-IL-1A humana capturado seguido por tratamiento con sustrato TMB. Tras la reacción con la enzima HRP, el sustrato TMB produce un producto soluble con un color azul intenso. La reacción enzimática se detiene añadiendo una solución de parada que vuelve el producto de color azul en amarillo. Las medidas colorimétricas se llevan a cabo en un lector de microplacas a 450 nm.

40 Se proporciona una muestra plasmática de aproximadamente 5 mL por muestra. El plasma se mantiene a 2-8 °C antes de dividirlo en alícuotas y almacenarlo a -80 °C. Las muestras plasmáticas se diluyen 1:500, 1:1000 y 1:2000 veces para usarlas como muestras. Se utiliza un control positivo en tampón que contiene 20  $\mu$ g/mL de solución madre de anticuerpo MABp1 con diluciones 1:5000 y 1:10 000 veces en la microplaca. Se utiliza tampón como control negativo así como también un plasma de control negativo predeterminado, que se diluye 1:1000, 1:2000 y 1:5000. Se utiliza un control de plasma positivo adicional, que es plasma al que se le han añadido 20  $\mu$ g/mL de anticuerpo MABp1 y diluido 1:5000 y 1:10 000 para las muestras en la microplaca.

45 Si el valor del control positivo está dentro de  $\pm 2$  desviación estándar, se consideran los datos del ELISA aceptables. Sin embargo, si el valor del control positivo QC está fuera de  $\pm 2$  desviación estándar, se consideran los datos del ELISA inaceptables y el experimento se ha de repetir. Utilizando un Kaleidagraph, se representa gráficamente la absorbancia media logarítmica de la solución estándar como una función de la concentración logarítmica con barras de error de la absorbancia. La curva estándar debe mostrar un comportamiento lineal. Los resultados de un análisis farmacocinético de las muestras extraídas del paciente tal como se describe en el Ejemplo 2 se muestran en la Fig. 1.

Ejemplo 4 – Examen por citometría de flujo (FACS) de subconjuntos de linajes sanguíneos

55 Se describen procedimientos FACS tanto para la tinción de sangre entera como para la tinción de células



5 mononucleares de la sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés) enriquecidas a partir de sangre entera. Se realizó la tinción tanto de la sangre entera como de PBMC en todas las muestras. Este análisis por FACS permite la determinación del porcentaje relativo de subconjuntos de linajes sanguíneos: linfocitos B y T, células NK, monocitos, neutrófilos y células IL-1 $\alpha$ +. En las Figs. 2 y 3 se muestran los resultados de los análisis FACS de las muestras extraídas del paciente tal como se ha descrito en el Ejemplo 2. Una fotomicrografía de un frotis de sangre mostró que la administración de MABp1 provocó una vacuolización considerable en los monocitos de la sangre periférica cuando se analizaron 32 días después de la administración.

Ejemplo 5 – Tratamiento de la uveítis con un anticuerpo monoclonal específico para IL-1 $\alpha$

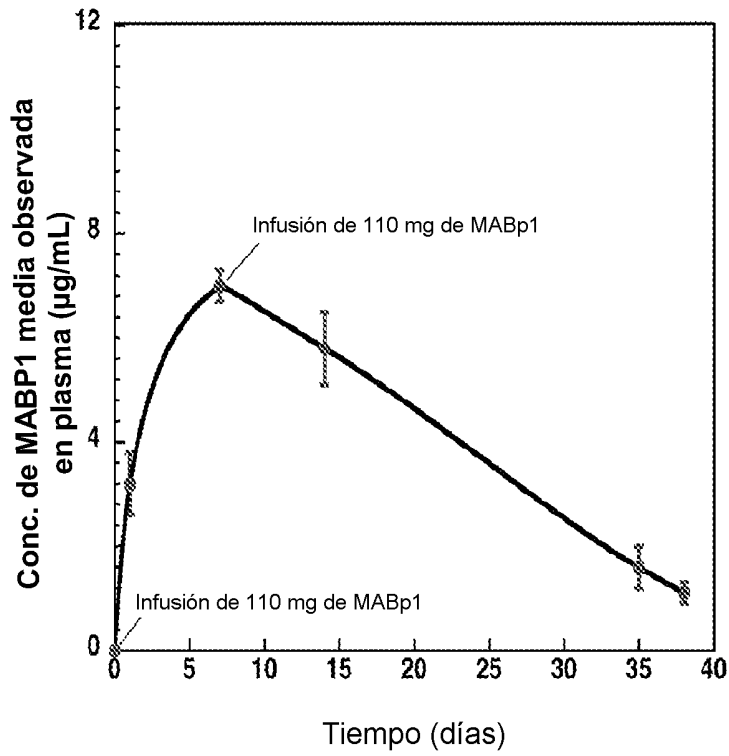
10 Aproximadamente dos meses después de la resolución de la uveítis descrita en el Ejemplo 2, el paciente experimentó otro episodio de uveítis (predominantemente iritis). El paciente comenzó con gotas de corticosteroides y antiinflamatorios no esteroides (AINE). También se utilizaron AINE orales. La uveítis no respondió al tratamiento y avanzó. Sin embargo, no hubo evidencia de ninguna afectación articular, y el hombro siguió mostrando mejoras en la movilidad. Al paciente se le administró MABp1 por vía tópica en el ojo afectado. Se administró MABp1 (solución de 15 mg/mL) con una tasa de una gota por minuto, durante 10 minutos, con un total de diez gotas en el ojo  
15 afectado (aproximadamente 3.75 mg en 0.25 mL). El paciente no se quejó de ningún dolor durante la administración. Sin embargo, durante varias horas después, el paciente notificó incomodidad y escozor. Se administraron AINE orales y el paciente se durmió. A la mañana siguiente, el paciente notificó una mejora notable, reducción del dolor y menos inflamación que antes de la administración. Veinticuatro horas después de la primera administración de las gotas de MABp1, al paciente se le administraron 10 gotas de la misma manera. Nuevamente, se observó  
20 incomodidad y escozor. Se administraron AINE orales y nuevamente el paciente reposó en cama. La uveítis se resolvió por completo. No se administraron más medicamentos. No se observó reaparición de la uveítis durante los siguientes cuatro meses.

Otras realizaciones

25 Se debe entender que, aunque la invención se ha descrito junto con la descripción detallada de esta, la descripción anterior pretende ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que está definido por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  para uso en un método para reducir el dolor y la rigidez articulares asociados con la artritis en un ser humano que padece artritis, donde dicho anticuerpo reduce el número de monocitos de la sangre periférica CD14<sup>+</sup>IL-1 $\alpha$ <sup>+</sup> en el sujeto y mejora notablemente la inflamación tanto en los sitios articulares como extraarticulares.
2. El anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  es un anticuerpo monoclonal.
3. El anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  para uso de acuerdo con la reivindicación 2, donde el anticuerpo monoclonal es una IgG1.
- 10 4. El anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  se formula en una composición farmacéutica adecuada para la administración por inyección.
5. El anticuerpo anti-IL-1 $\alpha$  para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la artritis es artritis reactiva.



Tiempo (días)	Muestra	Conc. de MABP1 inyectada en sangre (mg)	Conc. de MABP1 media observada en plasma (µg/mL)	Desv. Est. en la conc. de MABP1 observada en plasma (µg/mL)
0	RD019U	0	0.0	0.0
1	RD019S-1	110	3.2	0.6
7	RD019S-2	0	7.0	0.3
14	RD019S-3	110	5.8	0.7
35	RD019S-4	0	1.4	0.2

FIG. 1

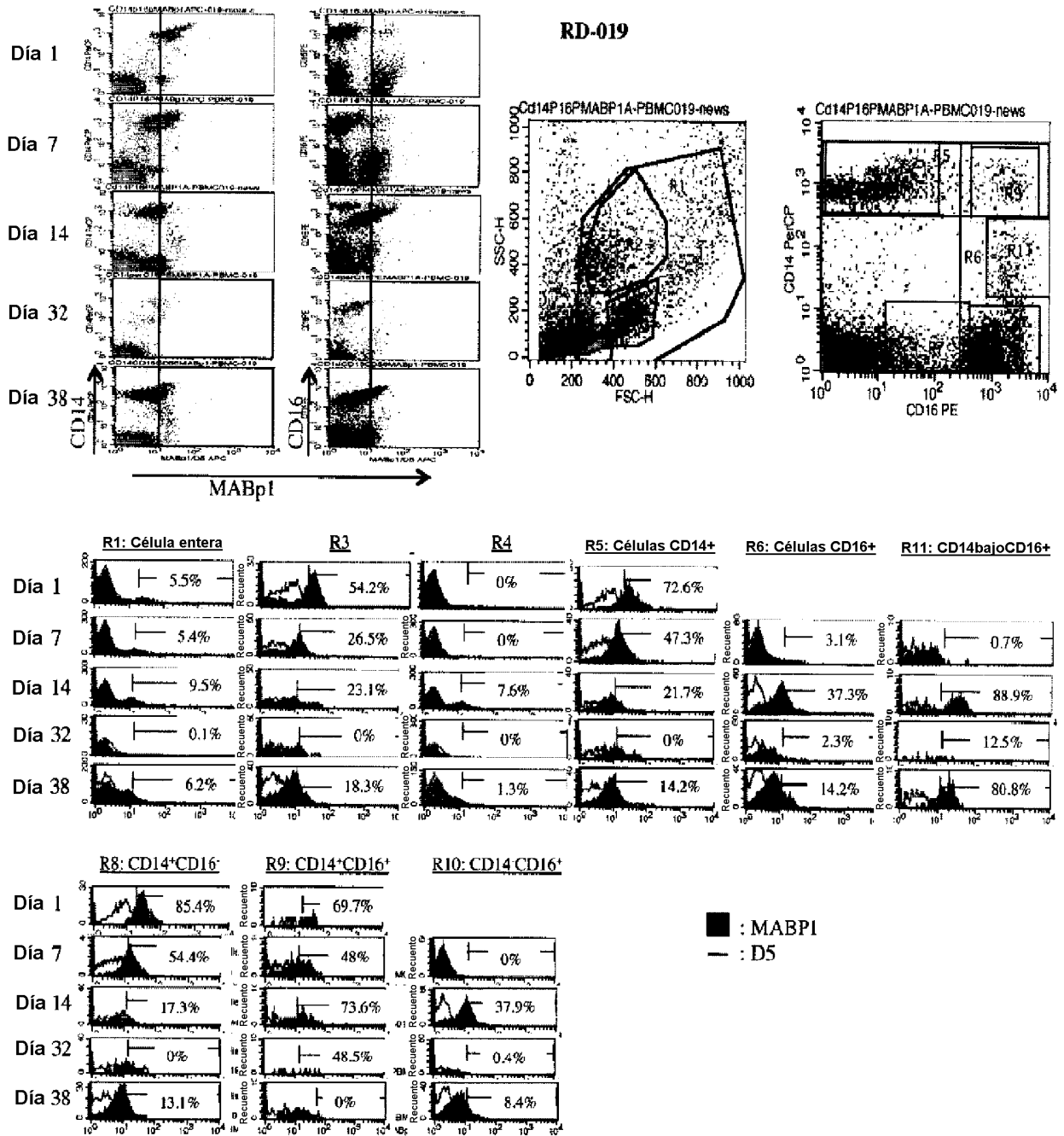


FIG. 2

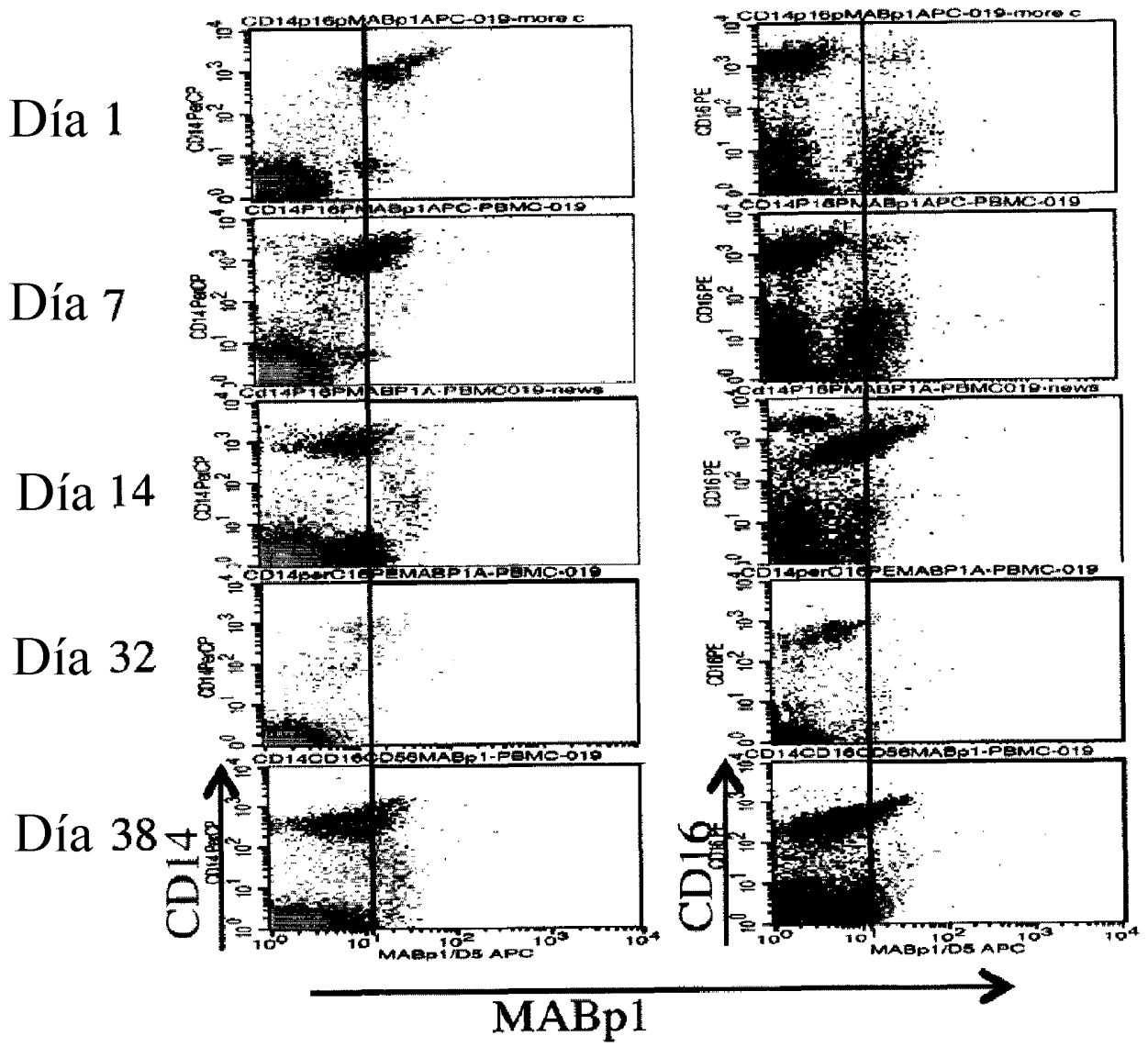


FIG. 3