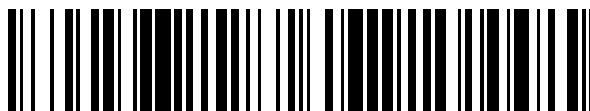


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 648**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.03.2014** **PCT/US2014/032209**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2014** **WO14160958**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2014** **E 14722916 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2019** **EP 2978451**

54 Título: **Composiciones y métodos para aumentar la semivida en suero de un agente terapéutico dirigido a C5 del complemento**

30 Prioridad:

29.03.2013 US 201361806687 P

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

23.06.2020

73 Titular/es:

ALEXION PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
121 Seaport Boulevard
Boston, MA 02210, US

72 Inventor/es:

HUNTER, JEFFREY, W. y
TAMBURINI, PAUL, P.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 768 648 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

Composiciones y métodos para aumentar la semivida en suero de un agente terapéutico dirigido a C5 del complemento

5 **Campo técnico**

El campo de la invención es medicina, inmunología, biología molecular y química de las proteínas.

Antecedentes

10 El sistema del complemento actúa junto con otros sistemas inmunitarios del cuerpo para defenderse contra la intrusión de patógenos celulares y víricos. Hay al menos 25 proteínas del complemento, que se encuentran como una colección compleja de proteínas plasmáticas y cofactores de membrana. Las proteínas plasmáticas constituyen aproximadamente el 10 % de las globulinas en el suero de los vertebrados. Los componentes del complemento logran
15 sus funciones defensivas inmunitarias al interactuar en una serie de intrincados pero precisos eventos de escisión enzimática y unión a la membrana. La cascada del complemento resultante conduce a la producción de productos con funciones opsónicas, inmunorreguladoras y líticas. Se proporciona un resumen conciso de las actividades biológicas asociadas con la activación del complemento, por ejemplo, en The Merck Manual, 16ª Edición.

20 La cascada del complemento puede progresar a través de la vía clásica (CP, por sus siglas en inglés), de la vía de lectina o de la vía alternativa (AP, por sus siglas en inglés). La vía de lectina se inicia generalmente con la unión de lectina de unión a manosa (MBL, por sus siglas en inglés) a sustratos con alto contenido de manosa. La AP puede ser independiente de anticuerpos, y puede iniciarse por ciertas moléculas sobre superficies patógenas. La CP se inicia generalmente mediante el reconocimiento de anticuerpos y la unión a, un sitio antigénico en una célula diana. Estas
25 vías convergen en la convertasa C3, el punto donde una proteasa activa escinde el componente C3 del complemento para producir C3a y C3b.

La AP C3 convertasa se inicia por la hidrólisis espontánea del componente C3 del complemento, que es abundante en la fracción plasmática de la sangre. Este proceso, también conocido como "tickover", se produce a través de la
30 escisión espontánea de un enlace tioéster en C3 para formar C3i o C3 (H₂O). El Tickover (ralentí) está facilitado por la presencia de superficies que soportan la unión de C3 activado y/o tienen características de carga neutra o positiva (por ejemplo, superficies de células bacterianas). Esta formación de C3(H₂O) permite la unión del factor B de la proteína plasmática, que a su vez permite que el factor D escinda el factor B en Ba y Bb. El fragmento Bb permanece unido a C3 para formar un complejo que contiene C3(H₂O)Bb, la convertasa C3 de "fase fluida" o de "iniciación".
35 Aunque solo se produce en pequeñas cantidades, la convertasa C3 de fase fluida puede escindir múltiples proteínas C3 en C3a y C3b y da como resultado la generación de C3b y su posterior unión covalente a una superficie (por ejemplo, una superficie bacteriana). El factor B unido al C3b unido a la superficie se escinde por el factor D para formar así el complejo AP C3 convertasa unida a la superficie que contiene C3b, Bb. (Véase, por ejemplo, Muller-Eberhard (1988) Ann Rev Biochem 57:321-347.)

40 La AP C5 convertasa-(C3b)₂, Bb- se forma tras la adición de un segundo monómero C3b a la AP C3 convertasa. (Véase, por ejemplo, Medicus et al. (1976) J Exp Med 144:1076-1093 y Fearon et al. (1975) J Exp Med 142:856-863.) El papel de la segunda molécula C3b es unir C5 y presentarlo para su escisión por Bb. (Véase, por ejemplo, Isenman et al. (1980) J Immunol 124:326-331.) Las AP C3 y C5 convertasas se estabilizan mediante la adición de la proteína trimérica properdina como se describe en, por ejemplo, Medicus et al. (1976), *supra*. Sin embargo, no se requiere la
45 unión a properdina para formar una C3 o C5 convertasa de la vía alternativa funcional. (Véase, por ejemplo, Schreiber et al. (1978) Proc Natl Acad Sci USA 75: 3948-3952 y Sissons et al. (1980) Proc Natl Acad Sci USA 77: 559-562.)

La CP C3 convertasa se forma tras la interacción del componente C1 del complemento, que es un complejo de C1q, C1r y C1s, con un anticuerpo que está unido a un antígeno diana (por ejemplo, un antígeno microbiano). La unión de la porción C1q de C1 al complejo anticuerpo-antígeno provoca un cambio conformacional en C1 que activa C1r. El C1r activo escinde después los C1s asociados a C1 para generar de este modo una serina proteasa activa. El C1s activo escinde el componente C4 del complemento en C4b y C4a. Como C3b, el fragmento C4b recién generado contiene un tiol altamente reactivo que forma fácilmente enlaces amida o éster con moléculas adecuadas en una superficie
50 diana (por ejemplo, una superficie celular microbiana). El C1s también escinde el componente C2 del complemento en C2b y C2a. El complejo formado por C4b y C2a es la CP C3 convertasa, que es capaz de procesar C3 en C3a y C3b. La CP C5 convertasa - C4b,C2a,C3b, se forma tras la adición de un segundo monómero C3b a la CP C3 convertasa. (Véase, por ejemplo, Muller-Eberhard (1988), *supra* y Cooper et al. (1970) J Exp Med 132:775-793.)

60 Además de su papel en las C3 y C5 convertasas, C3b también funciona como una opsonina a través de su interacción con los receptores del complemento presentes en las superficies de las células presentadoras de antígenos, tales como los macrófagos y las células dendríticas. La función opsónica de C3b generalmente se considera una de las funciones antiinfecciosas más importantes del sistema del complemento. Los pacientes con lesiones genéticas que bloquean la función de C3b son propensos a la infección por una amplia variedad de organismos patógenos, mientras
65 que los pacientes con lesiones posteriores en la secuencia de la cascada del complemento, es decir, los pacientes con lesiones que bloquean las funciones de C5, se ha descubierto que son más propensos a la infección por *Neisseria*,

y además solo algo más propensos.

Las AP y CP C5 convertasas escinden C5 en C5a y C5b. La escisión de C5 libera C5a, una potente anafilatoxina y factor quimiotáctico, y C5b, que permite la formación del complejo del complemento terminal lítico, C5b-9. C5b se combina con C6, C7 y C8 para formar el complejo C5b-8 en la superficie de la célula diana. Tras la unión de varias moléculas C9, se forma el complejo de ataque a la membrana (MAC, C5b-9, complejo del complemento terminal - TCC, por sus siglas en inglés). Cuando se inserta un número suficiente de MAC en las membranas de las células diana, las aberturas que crean (poros MAC) median la lisis osmótica rápida de las células diana.

Mientras que un sistema de complemento que funciona correctamente proporciona una defensa fuerte contra la infección por microbios, la regulación o activación inapropiada de las vías del complemento se ha implicado en la patogénesis de una variedad de trastornos que incluyen, por ejemplo, artritis reumatoide (AR); nefritis por lupus; asma; lesión por isquemia-reperusión; síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS, por sus siglas en inglés); enfermedad por depósitos densos (DDD); hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH, por sus siglas en inglés); degeneración macular (p. ej., degeneración macular relacionada con la edad (AMD, por sus siglas en inglés)); hemolisis, síndrome de enzimas hepáticas elevadas y plaquetas bajas (HELLP); púrpura trombocitopénica trombótica (TTP); pérdida fetal espontánea; vasculitis pauciinmunitaria; epidermolisis ampollosa; pérdida fetal recurrente; esclerosis múltiple (EM); lesión cerebral traumática; y lesiones resultantes de infarto de miocardio, derivación cardiopulmonar y hemodiálisis. (Véase, por ejemplo, Holers et al. (2008) *Immunological Reviews* 223:300-316.) Se ha demostrado que la regulación negativa de la activación del complemento es eficaz en el tratamiento de varios indicios de enfermedad en una variedad de modelos animales. Véanse, por ejemplo, Rother et al. (2007) *Nature Biotechnology* 25(11): 1256-1264; Wang et al. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:8563-8568; Wang et al. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:8955-8959; Rinder et al. (1995) *J. Clin. Invest.* 96:1564-1572; Kroshus et al. (1995) *Transplantation* 60:1194-1202; Homeister et al. (1993) *J. Immunol.* 150:1055-1064; Weisman et al. (1990) *Science* 249:146-151; Amsterdam et al. (1995) *Am. J. Physiol.* 268:H448-H457; y Rabinovici et al. (1992) *J Immunol* 149:1744 1750.

El documento WO 2010/151526 divulga anticuerpos biespecíficos que son útiles en la inhibición del complemento terminal (por ejemplo, el ensamblaje y/o actividad del complejo C5b-9) y/o inflamación mediada por anafilatoxina C5a (por ejemplo, quimiotaxis mediada por C5a de células inmunitarias inflamatorias). Los anticuerpos pueden usarse en métodos para tratar una variedad de trastornos asociados a la ruta del complemento.

El documento WO 2011/109338 divulga el tratamiento de la enfermedad de Degos usando un inhibidor del complemento y sugiere que se pueden formular juntos más de un inhibidor, por ejemplo, un ARNip específico de 05 y un anticuerpo anti-C5.

Sumario

La presente divulgación se refiere a composiciones y métodos para prolongar la semivida de un agente terapéutico, por ejemplo, un antagonista de C5 tal como un anticuerpo anti-C5, en el suero de un sujeto (por ejemplo, un ser humano). Los inventores apreciaron que el aclaramiento mediado por antígeno (es decir, el aclaramiento impulsado por C5) contribuye significativamente a reducir la semivida en suero de un anticuerpo antagonista anti-C5, tal como eculizumab. Mientras que los anticuerpos anti-C5 son altamente eficaces para inhibir el complemento *in vitro* e *in vivo* (véase, por ejemplo, Hillmen et al. (2004) *N Engl J Med* 350(6):552), los anticuerpos son particularmente susceptibles al aclaramiento mediado por la diana debido a la alta concentración de C5 en la sangre (véase la publicación de solicitud internacional n.º WO 2010/151526). La concentración de proteína C5 en el suero humano es de aproximadamente 75 mg/ml (0,4 mM) (Rawal y Pangburn (2001) *J Immunol* 166 (4): 2635-2642) y la proteína se renueva rápidamente. De hecho, la semivida de C5 humano en la sangre es de aproximadamente 63 horas. Véase Sissons et al. (1977) *Clin Invest* 59:704-715. La abundancia de C5 en suero requiere una concentración correspondientemente alta de un antagonista de C5 (p. ej., un anticuerpo anti-C5 como eculizumab) para inhibir eficazmente C5 en seres humanos, por ejemplo, seres humanos afectados por un trastorno asociado al complemento como la hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH). No obstante, debido a que un anticuerpo anti-C5 unido a C5 se elimina aproximadamente a la misma velocidad que C5, en comparación con la tasa de aclaramiento más lenta de un anticuerpo esperada en ausencia de aclaramiento mediado por antígeno, la inhibición sostenida de C5 y actividad del complemento en pacientes que lo necesitan también requiere una administración de anticuerpo con mayor frecuencia.

Los inventores apreciaron además que reducir la concentración de C5 en el suero, y particularmente administrar un antagonista de C5 a un ser humano en el que se reduce la concentración de C5, proporciona al menos dos ventajas: (a) reducir la cantidad de dosificación necesaria del antagonista de C5 y/o (b) reducir la frecuencia de dosificación necesaria del antagonista de C5. Un antagonista de C5 generalmente se administra a pacientes afectados con enfermedad hemolítica en una cantidad necesaria para mantener la actividad del complemento en suero por debajo del 20 % de la actividad del complemento en suero normal en ausencia del antagonista de C5. Para eculizumab, la concentración del anticuerpo necesaria para mantener la actividad del complemento en suero por debajo de este nivel es aproximadamente mayor que o igual a 35 a 50 mg/ml (es decir, aproximadamente 1 mol de eculizumab por 2 moles de C5). Véanse, por ejemplo, las publicaciones de solicitud de patente internacional números WO 2005/074607 y WO 2010/054403. Por debajo del umbral del 20 %, la actividad del complemento se reduce lo suficiente como para controlar, entre otras cosas, la hemólisis mediada por C5b en los pacientes. Sin embargo, generalmente, si la actividad

del complemento en dicho paciente excede ese umbral del 20 %, el paciente experimentará un evento disruptivo. Para un paciente que padece PNH, este evento disruptivo se caracteriza por hemoglobinuria, disfgia y un mayor riesgo de trombosis. Véanse, por ejemplo, la Publicación de solicitud de patente internacional n.º WO 2005/074607. Para un paciente que padece síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS), la disrupción puede ser aún más devastadora, trombosis e insuficiencia renal. Véase la publicación de solicitud de patente internacional n.º WO 2010/054403.

La reducción de la concentración de C5 en el suero reduce eficazmente la concentración del antagonista de C5 necesaria para mantener la actividad del complemento en suero por debajo del 20 %. Por consiguiente, cuando se reduce la concentración C5 en suero, la cantidad de dosis de un antagonista de C5 (por ejemplo, un anticuerpo anti-C5 como eculizumab) puede ser menor que la cantidad de dosis del antagonista necesaria para mantener la actividad del complemento en suero por debajo del 20 % cuando no se reduce la concentración de C5 en suero.

Además o como alternativa, un nivel más bajo de C5 en el suero puede reducir significativamente el impacto del aclaramiento mediado por el antígeno C5 sobre un anticuerpo antagonista anti-C5 administrado a un ser humano. Debido a que la velocidad sintética de C5 impulsa la velocidad a la que se aclara un antagonista de C5 como eculizumab, una reducción en esa velocidad sintética en virtud de, por ejemplo, un ARNip que inhibe la expresión de C5, prolongaría correspondientemente la residencia en suero del antagonista de C5. Por consiguiente, un facultativo médico que trata a un paciente afectado por un trastorno asociado al complemento puede administrar un antagonista de C5 al paciente con menos frecuencia y/o en una dosis más baja y aún así lograr la eficacia clínica durante un período de tiempo igual o más largo. La capacidad de administrar una dosis más baja del antagonista de C5, o la capacidad de administrar el antagonista de C5 con menos frecuencia, también permite rutas de suministro adicionales tal como, por ejemplo, administración subcutánea o administración intramuscular y oportunidades para la autoadministración por parte de los pacientes en sus hogares.

Por consiguiente, la presente invención proporciona:

[1] Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une al C5 del complemento humano para su uso en un método para tratar hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH) o síndrome hemolítico-urémico atípico (aHUS) en un ser humano, comprendiendo el método:

- (i) administrar al ser humano un ARNip específico para el ARNm que codifica C5 humano para reducir de ese modo la concentración de C5 en el suero del ser humano, seguido de;
- (ii) administrar al ser humano el anticuerpo de C5 o fragmento del mismo, en donde una concentración reducida de C5 en el suero del ser humano aumenta la semivida en suero del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo administrado al ser humano;

[2] Un ARNip específico para el ARNm que codifica C5 del complemento humano para su uso en un método para tratar hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH) o síndrome hemolítico-urémico atípico (aHUS) en un ser humano, comprendiendo el método:

- (i) administrar al ser humano un ARNip para reducir de ese modo la concentración de C5 en el suero del ser humano, seguido de;
- (ii) administrar al ser humano el anticuerpo de C5 o fragmento del mismo, en donde una concentración reducida de C5 en el suero del ser humano aumenta la semivida en suero del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo administrado al ser humano;

[3] El anticuerpo para su uso de acuerdo con [1] o el ARNip para su uso de acuerdo con [2], en donde el anticuerpo de C5, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, se une a los componentes C5 del complemento e inhibe la escisión de C5 en los fragmentos C5a y C5b;

[4] El anticuerpo para su uso de acuerdo con [1] o [3] o el ARNip para su uso de acuerdo con [2] o [3], en donde el anticuerpo es eculizumab;

[5] El anticuerpo para su uso de acuerdo con [1] o [3] o el ARNip para su uso de acuerdo con [2] o [3], en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es pexelizumab;

[6] El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] y [3] a [5] o el ARNip para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [2] a [5], en donde el ARNip reduce la concentración en suero de C5 en al menos el 10 %, al menos el 20 % o al menos el 40 %;

[7] El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] y [3] a [6] o el ARNip para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [2] a [6], en donde el ARNip y/o el anticuerpo se administra de forma crónica al ser humano;

[8] El anticuerpo o ARNip para su uso de acuerdo con [7], en donde el ARNip se administra al ser humano al menos una vez por semana durante al menos tres semanas, durante al menos seis semanas o durante al menos seis meses;

[9] El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] y [3] a [8] o el ARNip para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [2] a [8], en donde el anticuerpo y el ARNip se administran al ser humano en diferentes pautas de dosificación;

[10] El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] y [3] a [9] o el ARNip para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [2] a [9], en donde la semivida en suero del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo se incrementa 2 veces, 5 veces o 10 veces en comparación con la semivida en ausencia de la administración del ARNip;

[11] El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] y [3] a [10] o el ARNip para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [2] a [10], en donde las cantidades terapéuticamente eficaces del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo administrado al ser humano que tiene una concentración reducida de C5 es menor que la cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo necesaria sin la reducción en la concentración de C5;

[12] El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] y [3] a [11] o el ARNip para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [2] a [11], en donde la frecuencia de administración del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo al ser humano que tiene una concentración reducida de C5 es, con frecuencia, menor que la frecuencia de administración del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo al ser humano necesaria sin la reducción en la concentración de C5;

[13] El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] y [3] a [12] o el ARNip para su uso de acuerdo con uno cualquiera de [2] a [12] en donde el anticuerpo de C5 o fragmento del mismo se agota al menos en parte por aclaramiento mediado por antígeno; y

[14] Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une al C5 del complemento humano, para su uso en un método de tratamiento de la hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH) o síndrome hemolítico-urémico atípico (aHUS) en un ser humano, en donde el ser humano tiene una concentración en suero de C5 reducida, en relación con la concentración en suero de C5 normal, como resultado de la administración previa al ser humano de un ARNip específico para el ARNm que codifica C5 humano que reduce la concentración en suero de C5.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 representa una secuencia de aminoácidos ejemplar para el componente C5 del complemento humano (SEQ ID NO: 1).

La Fig. 2 representa una secuencia de aminoácidos ejemplar para el componente pro-C5 del complemento humano (SEQ ID NO: 2).

Descripción detallada

La divulgación proporciona un método para aumentar la semivida de un agente terapéutico en el suero de un sujeto (por ejemplo, un ser humano). El método comprende: (i) administrar al sujeto un compuesto que reduce en el sujeto la concentración en suero del antígeno (por ejemplo, antígeno soluble) al que se une un agente terapéutico para reducir de ese modo la concentración del antígeno en el suero del ser humano y (ii) administrar al sujeto el agente terapéutico, en donde una concentración reducida de antígeno en el suero del sujeto aumenta la semivida en suero del agente terapéutico administrado al sujeto. El agente terapéutico puede ser, por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, una molécula pequeña, un aptámero o una proteína armazón no anticuerpo.

El antígeno al que se une el agente terapéutico puede ser una proteína del complemento (p. ej., una proteína humana) tal como, por ejemplo, C1, C4, C3, C2, C5, C6, C7, C8, C9, properdina, factor B del complemento, factor D del complemento, MBL, MASP1, MASP2 o MASP3.

También se presenta un método para aumentar la semivida de un antagonista de C5 (por ejemplo, un anticuerpo anti-C5) en el suero de un ser humano, cuyo método incluye: (i) administrar al ser humano un compuesto que reduce la concentración del componente C5 del complemento en el suero del ser humano para reducir de este modo la concentración de C5 en el suero del ser humano y (ii) administrar al ser humano el antagonista de C5, en donde una concentración reducida de C5 en el suero del ser humano aumenta la semivida en suero del antagonista de C5 administrado al ser humano.

Como se usa en el presente documento, la expresión "antagonista de C5" o términos similares significa cualquier agente que se une a la proteína componente C5 del complemento e inhibe la escisión de C5 en los fragmentos C5a y C5b por la C5 convertasa (por ejemplo, una C5 convertasa de la ruta alternativa o de la ruta clásica). Como se usa en el presente documento, la expresión "C5 convertasa" puede referirse a la C5 convertasa C4bC2aC3b de la ruta clásica

o a la convertasa (C3b)₂Bb de la ruta alternativa.

Tal como se indica anteriormente, la administración del antagonista de C5 (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-C5) al ser humano en un contexto en el que la concentración en suero de C5 se reduce por debajo de los niveles normales tiene varios efectos ventajosos, por ejemplo, para seres humanos que tienen, se sospecha que tienen o en riesgo de desarrollar, una afección asociada al complemento. Por ejemplo, debido a que hay menos antígeno C5 en el suero del ser humano, la cantidad de antagonista de C5 administrada al ser humano que tiene la concentración reducida de C5 puede ser menor que la cantidad terapéuticamente eficaz del antagonista de C5 necesaria sin la reducción en la concentración de C5 (es decir, en el contexto de la concentración en suero normal de C5). Además o como alternativa, la frecuencia de administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del antagonista de C5 al ser humano que tiene una concentración reducida de C5 puede ser menos frecuente que la frecuencia de administración de la cantidad terapéuticamente eficaz al ser humano necesaria sin la reducción en la concentración de C5. Por ejemplo, en lugar de una dosificación quincenal, la frecuencia de dosificación necesaria podría ampliarse a, por ejemplo, una vez al mes, una vez cada dos meses o incluso una vez cada tres meses. Por consiguiente, la reducción de la concentración en suero de C5 puede ser uno o ambos de: a) reducir la cantidad de la dosis del antagonista de C5 necesaria y (b) la frecuencia de dosificación del antagonista de C5, y aun así lograr el mismo efecto terapéutico en el ser humano que una dosis más alta y/o una administración más frecuente de antagonista de C5 necesaria si el ser humano tiene una concentración en suero de C5 normal.

Por consiguiente, la divulgación presenta un método para disminuir la frecuencia mediante la cual una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de C5 debe administrarse a un ser humano que tiene, se sospecha que tienen o en riesgo de desarrollar, un trastorno asociado al complemento. El método incluye: (i) administrar al ser humano un compuesto que reduce la concentración del componente C5 del complemento en el suero del ser humano para reducir de este modo la concentración de C5 en el suero del ser humano y (ii) administrar al ser humano una cantidad terapéuticamente eficaz del antagonista de C5, en donde una concentración reducida de C5 en el suero del ser humano disminuye la frecuencia a la que una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de C5 debe administrarse al ser humano.

Además, la divulgación presenta un método para disminuir la dosis de un antagonista de C5 necesaria para la eficacia terapéutica en un ser humano que tiene, se sospecha que tienen o en riesgo de desarrollar, un trastorno asociado al complemento. El método comprende: (i) administrar al ser humano un compuesto que reduce la concentración del componente C5 del complemento en el suero del ser humano para reducir de este modo la concentración de C5 en el suero del ser humano y (ii) administrar al ser humano una cantidad terapéuticamente eficaz del antagonista de C5, en donde una concentración reducida de C5 en el suero del ser humano disminuye la dosis de un antagonista de C5 necesaria para la eficacia terapéutica en el ser humano.

También se presenta un método para tratar a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) afectado por un trastorno asociado al complemento. El método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista del componente C5 del complemento, en donde el sujeto tiene una concentración en suero de C5 reducida, en relación con la concentración en suero de C5 normal, como resultado de la administración previa al paciente de un compuesto que reduce la concentración en suero de C5. La concentración en suero normal de C5 puede ser la concentración promedio de C5 de sujetos sanos similares de la misma especie. La concentración en suero normal de C5 puede ser la concentración en suero de C5 en el sujeto (por ejemplo, ser humano) antes de la administración del compuesto y la posterior reducción de la concentración de C5.

La divulgación también proporciona un método para tratar a un sujeto afectado por un trastorno asociado al complemento, método que comprende administrar al sujeto un compuesto que reduce la concentración en suero de C5 en el sujeto en una cantidad eficaz para reducir la concentración en suero de C5 en el sujeto. El compuesto también se debe usar terapéuticamente junto con un inhibidor de C5, en donde, como resultado de la administración del compuesto, el inhibidor de C5 se puede administrar al sujeto (por ejemplo, un ser humano) con menos frecuencia y/o menos cantidades de dosis que la frecuencia de administración y/o la cantidad de dosis que se administraría si el sujeto tuviera una concentración en suero normal de C5. Por consiguiente, el sujeto es uno que debe ser tratado con un inhibidor de C5 y/o necesita tratamiento con el inhibidor de C5, como parte de la estrategia terapéutica para tratar el trastorno asociado al complemento del sujeto.

También se divulga un método para tratar a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) afectado por un trastorno asociado al complemento, método que comprende administrar al sujeto un compuesto que reduce la concentración en suero del componente C5 del complemento, en donde el sujeto también debe tratarse con un antagonista de C5.

La divulgación proporciona una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un compuesto que reduce la concentración en suero de C5 en un sujeto (por ejemplo, un ser humano), la composición para su uso en el tratamiento de un sujeto afectado por una afección asociada al complemento. El sujeto puede ser, por ejemplo, uno a quien se le va a administrar un antagonista de C5 (por ejemplo, un anticuerpo anti-C5).

La divulgación presenta una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un antagonista de C5 (por ejemplo, un anticuerpo anti-C5) para su uso en el tratamiento de un sujeto afectado con un trastorno

asociado al complemento. El sujeto puede ser uno que tenga un nivel reducido de expresión de C5 como resultado de la acción de un compuesto (que reduce la expresión de C5) administrado al sujeto.

En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede reducir el nivel de expresión por una o más células en el sujeto (por ejemplo, ser humano) del antígeno al que se une el agente terapéutico. Por consiguiente, en cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede reducir el nivel de expresión del componente C5 del complemento humano por una o más células en el ser humano.

En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede inhibir la transcripción de un gen que codifica el antígeno (por ejemplo, un gen del componente C5 del complemento humano) al que se une el agente terapéutico (por ejemplo, un antagonista de C5 tal como un anticuerpo anti-C5). En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede inhibir la traducción de un ARNm que codifica el antígeno al que se une el agente terapéutico. En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede reducir la estabilidad de un ARNm que codifica el antígeno al que se une el agente terapéutico. Por consiguiente, cuando el agente terapéutico es un antagonista de C5 tal como un anticuerpo anti-C5, el compuesto puede inhibir la transcripción de un gen del componente C5 del complemento humano. El compuesto puede inhibir la traducción de un ARNm que codifica el componente C5 del complemento humano. El compuesto puede reducir la estabilidad de un ARNm que codifica el componente C5 del complemento humano. En algunas realizaciones, el compuesto es un ARNip específico para el ARNm que codifica el antígeno al que se une el agente terapéutico (por ejemplo, un ARNip específico para el componente C5 del complemento humano). En algunas realizaciones, el compuesto es un ácido nucleico antisentido complementario a un ARNm que codifica el antígeno al que se une el agente terapéutico (por ejemplo, un ácido nucleico antisentido complementario a un ARNm que codifica el componente C5 del complemento humano).

En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el antagonista de C5 puede seleccionarse del grupo que consiste en: MB12/22, MB12/22-RGD, ARC187, ARC1905, SSL7 y OmCI.

En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el antagonista de C5 puede ser un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a los componentes C5 del complemento e inhibe la escisión de C5 por la C5 convertasa en los fragmentos C5a y C5b. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo puede ser, por ejemplo, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un diacuerpo, un anticuerpo quimerizado o quimérico, un anticuerpo desimmunizado, un anticuerpo completamente humano, un anticuerpo monocatenario, un anticuerpo de dominio, un fragmento Fv, un fragmento Fd, un fragmento Fab, un fragmento Fab' o un fragmento F(ab')₂. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede ser un anticuerpo biespecífico o un fragmento de unión a antígeno biespecífico. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo puede ser un anticuerpo DVD-Ig.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es eculizumab. En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo anti-C5 es pexelizumab.

En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede reducir la concentración en suero del antígeno (por ejemplo, C5 humano) al que se une el agente terapéutico en al menos el 2 (por ejemplo, al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, o 100) %. Por ejemplo, en cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede reducir la concentración en suero de C5 en al menos el 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 % o 70 %.

La concentración en suero de C5 puede reducirse el 40 % o menos (por ejemplo, 39 %, 38 %, 37 %, 36 %, 35 %, 34 %, 33 %, 32 %, 31 %, 30 %, 29 %, 28 %, 27 %, 26 %, 25 %, 24 %, 23 %, 22 %, 21 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 % o 5 %) de la concentración en suero normal de C5 (p. ej., La concentración en suero promedio de C5 entre individuos o la concentración en suero de C5 en el suero del paciente antes del tratamiento con el compuesto).

El compuesto puede administrarse al paciente en una cantidad eficaz para reducir la expresión de la proteína C5 y/o ARNm por las células hepáticas en al menos el 20 (por ejemplo, al menos el 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, o 95) %.

En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede administrarse crónicamente al sujeto (por ejemplo, al ser humano). En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el agente terapéutico (p.ej., un agonista de C5) puede administrarse crónicamente al sujeto (por ejemplo, al ser humano). En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, tanto el compuesto (por ejemplo, un compuesto de ácido nucleico que reduce la expresión de C5) como el agente terapéutico (por ejemplo, un antagonista de C5) pueden administrarse crónicamente al sujeto (por ejemplo, al ser humano). Como se usa en el presente documento, "administrado crónicamente", "tratamiento crónico", "tratar crónicamente", o variaciones gramaticales similares de los mismos se refieren a un régimen de tratamiento que se emplea para mantener un cierto umbral de concentración de un compuesto o agente terapéutico en la sangre, suero o plasma de un paciente necesario para la actividad en el paciente durante un período prolongado de tiempo. Por consiguiente, un paciente tratado crónicamente con un compuesto puede ser tratado por un período de tiempo mayor que o igual a 2 semanas (por ejemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8,

9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, o 52 semanas; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 meses; o 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, o 12 años o por el resto de la vida del paciente) con el compuesto en una cantidad y con una frecuencia de dosificación que sean suficientes para mantener en la sangre del paciente una reducción en la concentración del antígeno al que se une el agente terapéutico. De manera similar, un paciente tratado crónicamente con un antagonista de C5 tal como un anticuerpo anti-C5 puede ser tratado por un período de tiempo mayor que o igual a 2 semanas (por ejemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, o 52 semanas; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 meses; o 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, o 12 años o por el resto de la vida del paciente) con el agente terapéutico en una cantidad y con una frecuencia de dosificación que son suficientes para mantener la inhibición o la inhibición sustancial (menos del 20 % de la actividad del complemento presente en un ser humano en ausencia de un antagonista de C5) de la actividad sistémica del complemento en el paciente. El inhibidor del complemento puede administrarse crónicamente a un paciente que lo necesite en una cantidad y con una frecuencia que sean eficaces para mantener la actividad hemolítica en suero en menos que o igual al 20 (p. ej., 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, o incluso debajo del 5) %. Véase, por ejemplo, Hill et al. (2005) Blood 106(7):2559. El inhibidor del complemento puede administrarse crónicamente a un paciente en una cantidad y con una frecuencia que sean eficaces para mantener niveles en suero de lactato deshidrogenasa (LDH) en al menos el 20 (por ejemplo, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, o incluso debajo del 5) % del intervalo normal para LDH. Véase Hill et al. (2005) *supra*. El inhibidor del complemento puede administrarse crónicamente a un paciente en una cantidad y con una frecuencia que sean eficaces un nivel en suero de LDH de menos de 550 (por ejemplo, menos de 540, 530, 520, 510, 500, 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 400, 390, 380, 370, 360, 350, 340, 330, 320, 310, 300, 290, 280, o menos de 270) UI/l. Tal como se indica anteriormente, la administración de un antagonista de C5 (p. ej., un anticuerpo anti-C5 como eculizumab) en el contexto de niveles reducidos de C5 en suero puede reducir la cantidad (dosis) del antagonista de C5 necesaria para la eficacia terapéutica y/o puede reducir la frecuencia con la misma dosis o se debe administrar una dosis reducida al paciente y aún mantener la inhibición del complemento terapéutica.

En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede administrarse al ser humano al menos una vez por semana durante al menos tres semanas. En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede administrarse al ser humano al menos una vez por semana durante al menos seis semanas. En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede administrarse al humano al menos una vez por semana durante al menos seis meses.

En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el compuesto puede administrarse por vía subcutánea al ser humano. En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, El agente terapéutico (p. ej., un antagonista de C5) y el compuesto pueden administrarse al ser humano usando diferentes vías de administración. En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el agente terapéutico (p. ej., un antagonista de C5) y el compuesto pueden administrarse al ser humano en diferentes pautas de dosificación.

Cada dosis del compuesto administrado al paciente puede estar entre 0,01 mg y 30 mg por kg de peso del paciente. La dosis puede estar entre 0,01 mg/kg y 35 mg/kg (por ejemplo, 0,1 mg/kg -10 mg/kg, 1 mg/kg -15 mg/kg, 0,1 mg/kg - 5 mg/kg, 3 mg/kg - 5 mg/kg, 10 mg/kg - 30 mg/kg, 15 mg/kg - 35 mg/kg, 1 mg/kg - 3 mg/kg, 10 mg/kg - 20 mg/kg, 0,01 mg/kg - 1 mg/kg, 5 mg/kg - 20 mg/kg, 5 mg/kg -15 mg/kg, o 2 mg/kg to 15 mg/kg). La dosis del compuesto puede ser de al menos 0,01 (p. ej., 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, o 36) mg/kg. La dosis del compuesto puede ser de al menos 0,01 mg/kg (por ejemplo, al menos 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10) mg/kg, pero no superior a 50 (p.ej., 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, u 11) mg/kg.

La semivida en suero del agente terapéutico (p. ej., el antagonista de C5 tal como un anticuerpo anti-C5) puede aumentarse en al menos 2 (p. ej., al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50 o 100) veces en el contexto de una concentración en suero reducida del antígeno al que se une el agente terapéutico. Es decir, en cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, la semivida en suero de un antagonista de C5 tal como un anticuerpo anti-C5 puede aumentarse en al menos 2 (p. ej., al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50 o 100) veces en el contexto de una concentración en suero reducida de C5. Por ejemplo, en cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, la semivida en suero de un agente terapéutico puede aumentar a partir de, por ejemplo, 3 días a 14 días, de 2,5 días a 10 días, de 2 días a 15 días, de 5 días a 15 días, de 10 días a 20 días, y así sucesivamente.

Tal como se indica anteriormente, en cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, las cantidades terapéuticamente eficaces del antagonista de C5 administrado al ser humano que tiene una concentración reducida de C5 es menor que la cantidad terapéuticamente eficaz del antagonista de C5 o necesaria sin la reducción en la concentración de C5. Las expresiones "cantidad terapéuticamente eficaz" o "dosis terapéuticamente eficaz", o expresiones similares usados en el presente documento pretenden significar una cantidad de un agente (por ejemplo, un agente terapéutico tal como un antagonista de C5) que provocará la respuesta biológica o médica deseada (por ejemplo, una mejora en uno o más síntomas de un trastorno asociado al complemento y/o inhibición de la actividad del complemento).

- En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, la frecuencia de administración del antagonista de C5 al ser humano que tiene una concentración reducida de C5 es, con frecuencia, menor que la frecuencia de administración del antagonista de C5 al ser humano necesaria sin la reducción en la concentración de C5. Donde el antagonista de C5 es un anticuerpo anti-C5, la frecuencia de administración del antagonista de C5 al ser humano que tiene una concentración reducida de C5 no es más frecuente que una vez al mes. En otro ejemplo, en el que el antagonista de C5 es un anticuerpo anti-C5, la frecuencia de administración del antagonista de C5 al ser humano que tiene una concentración reducida de C5 no es más frecuente que una vez cada dos meses.
- En cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, el trastorno asociado al complemento puede seleccionarse del grupo que consiste en hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH), síndrome urémico hemolítico adquirido (aHUS), síndrome hemolítico urémico relacionado con *E. coli* por toxina shiga (STEC-HUS, por sus siglas en inglés), enfermedad por depósitos densos (DDD), nefropatía por C3, miastenia grave, neuromielitis óptica, enfermedad por crioaglutininas (CAD, por sus siglas en inglés), vasculitis asociada a anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) (AAV), asma, degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), rechazo de trasplantes, síndrome de Goodpasture, glomerulonefritis, vasculitis, artritis reumatoide, dermatitis, lupus eritematoso sistémico (LES), Síndrome de Guillain-Barré (GBS), dermatomiositis, psoriasis, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, diabetes de tipo I, pénfigo, anemia hemolítica autoinmunitaria (AIHA por sus siglas en inglés), púrpura trombocitopénica idiopática (ITP, por sus siglas en inglés), nefritis por lupus, lesión por isquemia-reperfusión, púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), vasculitis pauci-inmunitaria, epidermolisis ampollosa, esclerosis múltiple, pérdida fetal espontánea, pérdida fetal recurrente, lesión cerebral traumática, lesión resultantes de infarto de miocardio, derivación cardiopulmonar y hemodiálisis y hemólisis, síndrome de enzimas hepáticas elevadas y plaquetas bajas (HELLP).
- "Polipéptido", "péptido" y "proteína" se utilizan indistintamente, y significan cualquier cadena de aminoácidos unidos por un enlace peptídico, independientemente de la longitud de la modificación posterior a la traducción. Como se indica a continuación, los polipéptidos descritos en el presente documento pueden ser, por ejemplo, proteínas de tipo silvestre, fragmentos funcionales de las proteínas de tipo silvestre o variantes de las proteínas o fragmentos de tipo silvestre. Las variantes, de acuerdo con la divulgación, pueden contener sustituciones, eliminaciones o inserciones de aminoácidos. Las sustituciones pueden ser conservativas o no conservativas. Las sustituciones conservativas incluyen de forma general sustituciones dentro de los siguientes grupos: glicina y alanina; valina, isoleucina, y leucina; ácido aspártico y ácido glutámico; asparagina, glutamina, serina y treonina; lisina, histidina y arginina; y fenilalanina y tirosina.
- Como se usa en el presente documento, el porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos se define como el porcentaje de aminoácidos de una secuencia candidata que son idénticos a los aminoácidos de una secuencia seleccionada, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia. La alineación con el fin de determinar el porcentaje de identidad de secuencia puede lograrse de varias maneras que se encuentran dentro de las capacidades de la técnica, por ejemplo, usando programas informáticos disponibles de manera pública, tales como el programa BLAST. Los parámetros adecuados para medir la alineación, incluyendo cualquier algoritmo necesario para conseguir la alineación máxima sobre toda la longitud de las secuencias que se comparan, se pueden determinar mediante métodos conocidos.
- A menos que se definan de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente una persona normalmente experta en la técnica a la cual pertenece la presente divulgación. En caso de conflicto, prevalecerá el presente documento, incluyendo las definiciones. A continuación se describen métodos y materiales preferidos, aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o ensayos de los métodos y composiciones divulgados actualmente.
- Otras características y ventajas de la presente divulgación, por ejemplo, los métodos para aumentar la semivida de un agente terapéutico (por ejemplo, un antagonista de C5), serán evidentes a partir de la siguiente descripción, los ejemplos y las reivindicaciones.
- La divulgación presenta composiciones (por ejemplo, compuestos y agentes terapéuticos tales como antagonistas de C5) y métodos para prolongar la semivida de un agente terapéutico en el suero de un ser humano. Por ejemplo, la divulgación proporciona métodos para prolongar la semivida en suero de un antagonista de C5 (por ejemplo, un anticuerpo anti-C5) en un ser humano mediante la reducción de la concentración de C5 en el suero del ser humano. Aunque de ninguna manera pretende ser limitante, a continuación se exponen composiciones, conjugados, composiciones farmacéuticas y formulaciones ejemplares, métodos para generar tales composiciones, así como métodos para su uso las composiciones como se expone a continuación.

Compuestos que Reducen la Concentración en Suero del Componente C5 del Complemento

- Como se usa en el presente documento, "un compuesto que reduce la concentración del componente C5 del complemento en suero" es cualquier agente que inhibe: (i) la expresión de una proteína componente C5 del complemento; (ii) el tráfico intracelular adecuado, la modificación postraduccional o la secreción por una célula, de una

proteína componente C5 del complemento; o (iii) la estabilidad de una proteína C5 en el suero de un sujeto, que finalmente tiene el impacto de reducir la concentración de C5 en el suero de un sujeto (por ejemplo, un ser humano). La inhibición de la expresión de la proteína componente C5 del complemento incluye: inhibición de la transcripción de un gen que codifica una proteína C5 humana; aumento de la degradación de un ARNm que codifica una proteína C5 humana; y/o inhibición de la traducción de un ARNm que codifica una proteína C5 humana. Por consiguiente, un compuesto puede reducir la concentración en suero de C5 mediante, entre otras cosas, mayor degradación de una proteína C5 humana; inhibición del procesamiento adecuado de una proteína pre-pro C5 humana; o inhibición del tráfico o secreción adecuados por una célula de una proteína C5 humana. El compuesto puede ser diferente un anticuerpo que se une a C5. El compuesto puede ser, por ejemplo, una molécula pequeña, un ácido nucleico (p. ej., un ARNip o un oligonucleótido antisentido), una proteína o un aptámero.

El compuesto puede ser uno que inhiba la expresión de la proteína C5. Los inhibidores de ácidos nucleicos, por ejemplo, pueden usarse para disminuir la expresión de un gen endógeno que codifica el componente C5 del complemento humano. El ácido nucleico antagonista puede ser, por ejemplo, un ARNip, un ARNbc, una ribozima, un formador de triple hélice, un aptámero o un ácido nucleico antisentido. Los ARNip son ARN de bicatenarios pequeños (ARNbc) que opcionalmente incluyen salientes. Por ejemplo, la región dúplex de un ARNip puede tener aproximadamente 18 a 25 nucleótidos de longitud, por ejemplo, aproximadamente 19, 20, 21, 22, 23 o 24 nucleótidos de longitud. Las secuencias de ARNip pueden ser exactamente complementarias del ARNm diana. Los ARNbc y ARNip en particular pueden usarse para silenciar la expresión génica en células de mamíferos (por ejemplo, células humanas). Un experto en la materia entendería cómo diseñar tales ácidos nucleicos inhibidores a la vista de la secuencia codificante de C5 humano (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). Véanse, por ejemplo, Clemens et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:6499-6503; Billy et al. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:14428-14433; Elbashir et al. (2001) Nature 411:494-8; Yang et al. (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:9942-9947 y las publicaciones de solicitud de patente de EE. UU. números, 20030166282, 20030143204, 20040038278 y 20030224432. Los agentes antisentido pueden incluir, por ejemplo, de aproximadamente 8 a aproximadamente 80 nucleobases (es decir, de aproximadamente 8 a aproximadamente 80 nucleótidos), por ejemplo, de aproximadamente 8 a aproximadamente 50 nucleobases, o de aproximadamente 12 a aproximadamente 30 nucleobases. Los compuestos antisentido incluyen ribozimas, oligonucleótidos de secuencia guía externa (EGS, por sus siglas en inglés) (oligozimas) y otros ARN catalíticos cortos u oligonucleótidos catalíticos que hibridan con el ácido nucleico diana y modulan su expresión. Los compuestos antisentido pueden incluir un tramo de al menos ocho nucleobases consecutivas que son complementarias a una secuencia en el gen diana. Un oligonucleótido no necesita ser 100 % complementario a su secuencia del ácido nucleico diana para ser específicamente hibridable. Un oligonucleótido es específicamente hibridable cuando la unión del oligonucleótido a la diana interfiere con la función normal de la molécula diana para producir una pérdida de utilidad, y hay un grado suficiente de complementariedad para evitar la unión no específica del oligonucleótido a las secuencias no diana en condiciones en las que se desea una unión específica, es decir, en condiciones fisiológicas en el caso de ensayos *in vivo* o tratamiento terapéutico o, en el caso de ensayos *in vitro*, en condiciones en las que se realizan los ensayos. La hibridación de oligonucleótidos antisentido con ARNm (por ejemplo, un ARNm que codifica una proteína C5 humana) puede interferir con una o más de las funciones normales del ARNm. Las funciones del ARNm a interferir incluyen todas las funciones clave tal como, por ejemplo, la translocación del ARN al sitio de traducción de la proteína, la traducción de la proteína a partir del ARN, el empalme del ARN para producir una o más especies de ARNm y la actividad catalítica en que puede participar el ARN. La unión de proteínas específicas al ARN también puede interferirse mediante la hibridación de oligonucleótidos antisentido con el ARN. Compuestos antisentido ejemplares incluyen secuencias de ADN o ARN que hibridan específicamente con el ácido nucleico diana, por ejemplo, el ARNm que codifica una proteína componente C5 del complemento humana. La región complementaria puede extenderse entre aproximadamente 8 y aproximadamente 80 nucleobases. Los compuestos pueden incluir una o más nucleobases modificadas.

Las nucleobases modificadas pueden incluir, por ejemplo, pirimidinas 5-sustituidas tales como 5-yodouracilo, 5-yodocitosina, y pirimidinas C5-propinilo tales como C5-propinilcitosina y C5-propiniluracilo. Otras nucleobases modificadas adecuadas incluyen, por ejemplo, 7-sustituidas-8-aza-7-deazapurinas y 7-sustituidas-7-deazapurinas tales como, por ejemplo, 7-yodo-7-deazapurinas, 7-ciano-7-deazapurinas y 7-aminocarbonil-7-deazapurinas. Ejemplos de estas incluyen 6-amino-7-yodo-7-deazapurinas, 6-amino-7-ciano-7-deazapurinas, 6-amino-7-aminocarbonil-7-deazapurinas, 2-amino-6-hidroxi-7-yodo-7-deazapurinas, 2-amino-6-hidroxi-7-ciano-7-deazapurinas y 2-amino-6-hidroxi-7-aminocarbonil-7-deazapurinas. Véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos números 4.987.071; 5.116.742; y 5.093.246; "Antisense RNA and DNA," D.A. Melton, Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1988); Haselhoff and Gerlach (1988) Nature 334:585-59; Helene (1991) Anticancer Drug D 6:569-84; Helene (1992) Ann. NY. Acad. Sci. 660:27-36; y Maher (1992) Bioassays 14:807-15.

Los métodos para determinar si un compuesto ha inhibido la expresión de un antígeno (por ejemplo, proteína C5) son bien conocidos en la técnica. Tales métodos para detectar la expresión de proteínas incluyen, sin limitación: transferencia Western, transferencia puntual, ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), inmunoensayos en "sándwich", ensayos de inmunoprecipitación, ensayos AlphaScreen® o AlphaLISA® o métodos basados en espectrometría de masas.

El término "inmunoensayo" abarca técnicas que incluyen, pero sin limitación, citometría de flujo, FACS, inmunoensayos enzimáticos (EIA, por sus siglas en inglés), tal como la técnica de inmunoanálisis múltiple enzimático (EMIT, por sus

siglas en inglés), ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), ELISA de captura de anticuerpos IgM (MAC ELISA) e inmunoensayo enzimático de micropartículas (MEIA, por sus siglas en inglés), además inmunoensayos de electroforesis capilar (CEIA, por sus siglas en inglés), radioinmunoensayos (RIA, por sus siglas en inglés), ensayos inmunoradiométricos (IRMA, por sus siglas en inglés), inmunoensayos de polarización de fluorescencia (FPIA, por sus siglas en inglés) y ensayos de quimioluminiscencia (CL, por sus siglas en inglés). Si se desea, tales inmunoensayos pueden ser automatizados. Los inmunoensayos también se pueden usar junto con fluorescencia inducida por láser. Los inmunoensayos de liposomas, tales como los inmunoensayos de liposomas por inyección de flujo y los inmunosensores de liposomas, también son adecuados para su uso en la presente invención. Además, los ensayos de nefelometría, en los que, por ejemplo, la formación de complejos de proteína/anticuerpo da como resultado un aumento de la dispersión de la luz que se convierte en una señal de velocidad máxima en función de la concentración del marcador, son adecuados para su uso en los métodos de la presente invención. Los productos de incubación pueden detectarse mediante ELISA, RIA, inmunoensayo con flúor (FIA) o ensayo inmunitario de partículas solubles (SPIA, por sus siglas en inglés).

Generalmente, la cantidad de C5 en una muestra de suero de un paciente tomada antes de la administración del compuesto se compara con la cantidad de C5 en una muestra de suero del mismo paciente después de la administración del compuesto (p. ej., 6 horas, 12 horas, 1 día, 36 horas, 2 días, 3 días, 1 semana o 2 semanas después de la administración del compuesto) al paciente. Una cantidad reducida de C5 en la muestra de suero obtenida después de la administración del compuesto, en comparación con la cantidad de C5 en una muestra de suero equivalente obtenida del paciente antes de la administración del compuesto, indica que el compuesto es uno que reduce la concentración de C5 en el suero del paciente.

Antagonistas de C5

Antagonista de C5 puede ser, por ejemplo, una molécula pequeña, un polipéptido, un análogo de polipéptido, un ácido nucleico o un análogo de ácido nucleico. "Molécula pequeña", como se usa en el presente documento, se refiere a un agente, que preferentemente tiene un peso molecular de menos de aproximadamente 6 kDa y lo más preferentemente de menos de aproximadamente 2,5 kDa. Muchas compañías farmacéuticas tienen bibliotecas extensas de mezclas químicas y/o biológicas que comprenden matrices de moléculas pequeñas, con frecuencia extractos de hongos, bacterias o algas, que pueden explorarse con cualquiera de los ensayos de la solicitud. Esta solicitud contempla el uso, entre otras cosas, de pequeñas bibliotecas químicas, bibliotecas de péptidos o colecciones de productos naturales. Tan et al., describieron una biblioteca con más de dos millones de compuestos sintéticos que es compatible con ensayos miniaturizados basados en células (J Am Chem Soc (1998) 120:8565-8566). Está dentro del alcance de esta aplicación que dicha biblioteca se pueda usar para explorar inhibidores del componente C5 del complemento humano. Existen numerosas bibliotecas de compuestos disponibles comercialmente, tal como la Chembridge DIVERSet. Las bibliotecas también están disponibles a través de investigadores académicos, tal como el conjunto Diversity del programa de agentes terapéuticos del desarrollo del NCI. También se puede emplear diseño racional de fármacos. Por ejemplo, el diseño racional de fármacos puede emplear el uso de información estructural en cristal o solución sobre la proteína componente C5 del complemento humana. Véanse, por ejemplo, las estructuras descritas en Hagemann et al. (2008) J Biol Chem 283(12):7763-75 y Zuiderweg et al. (1989) Biochemistry 28(1): 172-85. Véanse también, Fredslund et al. (2008) Nat. Immunol. 9:753-760 y Laursen et al. (2011) EMBO J. 30:606-616. El diseño racional de fármacos también se puede lograr basándose en compuestos conocidos, por ejemplo, un inhibidor conocido de C5 (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a una proteína componente C5 del complemento humana). La secuencia de aminoácidos del C5 humano es conocida (véase Haviland et al. (1991) J. Immunol. 146:362-368) y se muestra en la Figura 2 como la SEQ ID NO: 2. El C5 humano se sintetiza como una molécula pro-C5 que incluye un péptido señal de 18 aminoácidos más una proteína de 1658 aminoácidos que se procesa por escisión entre los aminoácidos 655-656 y 659-660. Una vez procesado por completo, el procesamiento da como resultado un péptido de 18 aminoácidos correspondiente al péptido señal, un péptido de 655 aminoácidos (aminoácidos 1-655) que se conoce como la cadena β , un péptido de 4 aminoácidos correspondiente a los aminoácidos 656-659 que se pierde, y un péptido de 999 aminoácidos correspondiente a los aminoácidos 660-1658, siendo este conocido como la cadena α . La cadena α y la cadena β se unen entre sí a través de enlaces disulfuro. Esta estructura final de las cadenas α y β es la molécula C5 completa. Este C5 puede escindirse mediante una C5 convertasa mediante una escisión entre los aminoácidos 733-734, separando así un fragmento de 74 aminoácidos de la cadena α (correspondiente a los aminoácidos 660-733). Este fragmento de 74 aminoácidos es C5a.

Los peptidomiméticos pueden ser compuestos en los que se modifica al menos una porción de un polipéptido objeto y la estructura tridimensional del peptidomimético permanece sustancialmente igual a la del polipéptido objeto. Los peptidomiméticos pueden ser análogos de un polipéptido objeto de la divulgación que son, por sí solos, polipéptidos que contienen una o más sustituciones u otras modificaciones dentro de la secuencia del polipéptido objeto. Como alternativa, al menos una porción de la secuencia del polipéptido objeto puede reemplazarse con una estructura no peptídica, de modo que la estructura tridimensional del polipéptido objeto se conserva sustancialmente. En otras palabras, se pueden reemplazar uno, dos o tres restos de aminoácidos dentro de la secuencia del polipéptido objeto por una estructura no peptídica. Además, otras porciones peptídicas del polipéptido objeto pueden, pero no necesariamente, reemplazarse con una estructura no peptídica. Los peptidomiméticos (tanto análogos peptídicos como no peptídicos) pueden tener propiedades mejoradas (p. ej., disminución de la proteólisis, mayor retención o mayor biodisponibilidad). Los peptidomiméticos generalmente tienen una disponibilidad oral mejorada, lo que los hace

especialmente adecuados para el tratamiento de trastornos en un ser humano o animal. Cabe señalar que los peptidomiméticos pueden o no tener estructuras químicas bidimensionales similares, pero compartir características estructurales y geométricas tridimensionales comunes. Cada peptidomimético puede tener además uno o más elementos de unión adicionales exclusivos.

Los aptámeros son secuencias cortas de oligonucleótidos que se pueden usar para reconocer y unir específicamente casi cualquier molécula, incluidas las proteínas de la superficie celular. La evolución sistemática de los ligandos mediante el proceso de enriquecimiento exponencial (SELEX) es poderosa y se puede utilizar para identificar fácilmente tales aptámeros. Los aptámeros se pueden producir para una amplia gama de proteínas de importancia para terapia y diagnósticos, tales como factores de crecimiento y antígenos de superficie celular. Estos oligonucleótidos se unen a sus dianas con afinidades y especificidades similares a las de los anticuerpos (véase, por ejemplo, Ulrich (2006) *Handb Exp Pharmacol*. 173:305-326).

En la invención, el inhibidor de C5 humano es un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a una proteína componente C5 del complemento humana. (En adelante, en el presente documento, el anticuerpo a veces se puede denominar "anticuerpo anti-C5").

En algunas realizaciones, el antagonista de C5 comprende, y/o es, eculizumab (Soliris®; Alexion Pharmaceuticals, Inc., Cheshire, CT). Véanse, por ejemplo, Kaplan (2002) *Curr Opin Investig Drugs* 3(7): 1017-23; Hill (2005) *Clin Adv Hematol Oncol* 3(11):849-50; y Rother et al. (2007) *Nature Biotechnology* 25(11): 1256-1488. En algunas realizaciones, el antagonista de C5 comprende, y/o es, pexelizumab (Alexion Pharmaceuticals, Inc., Cheshire, CT). Véanse, por ejemplo, Whiss (2002) *Curr Opin Investig Drugs* 3(6):870-7; Patel et al. (2005) *Drugs Today (Barc)* 41(3): 165-70; y Thomas et al. (1996) *Mol Immunol*. 33(17-18):1389-401. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-C5 o fragmento de unión a antígeno del mismo puede tener la misma o mayor afinidad por C5 que eculizumab o pexelizumab.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-C5 o fragmento de unión a antígeno del mismo puede unirse a un epítipo en la cadena alfa de la proteína componente C5 del complemento humana. Los anticuerpos que se unen a la cadena alfa de C5 se describen en, por ejemplo, la publicación de solicitud internacional de patente número WO 2010/136311 y la patente de EE. UU. número 6.355.245. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-C5 puede unirse a un epítipo en la cadena beta de la proteína componente C5 del complemento humana. Los anticuerpos que se unen a la cadena beta de C5 se describen en, por ejemplo, Moongkarndi et al. (1982) *Immunobiol* 162:397; Moongkarndi et al. (1983) *Immunobiol* 165:323; y Mollnes et al. (1988) *Scand J Immunol* 28:307-312. Véase también, la publicación de solicitud de patente internacional n.º WO 2010/136311.

Un antagonista de C5 puede ser una proteína de armazón no anticuerpo. Estas proteínas, generalmente, se obtienen mediante la adaptación combinatoria basada en la química de proteínas de unión a antígeno preexistentes. Por ejemplo, el sitio de unión de la transferrina humana para el receptor de la transferrina humana puede modificarse utilizando química combinatoria para crear una biblioteca diversa de variantes de transferrina, algunas de las cuales han adquirido afinidad por diferentes antígenos. Ali et al. (1999) *J Biol Chem* 274:24066-24073. La porción de transferrina humana que no participa en la unión del receptor permanece sin cambios y sirve como un armazón, como las regiones marco de los anticuerpos, para presentar los sitios de unión variantes. Las bibliotecas se seleccionan después, como lo hace una biblioteca de anticuerpos, contra un antígeno diana de interés para identificar aquellas variantes que tienen una selectividad y afinidad óptimas por el antígeno diana. Las proteínas de armazón no anticuerpos, aunque son similares en función a los anticuerpos, se promueven por tener una serie de ventajas en comparación con los anticuerpos, cuyas ventajas incluyen, entre otras cosas, una solubilidad y penetración en los tejidos potenciadas, una fabricación menos costosa y una fácil conjugación con otras moléculas de interés. Hey et al. (2005) *TRENDS Biotechnol* 23(10):514-522.

Un experto en la materia apreciaría que la porción del armazón de la proteína de armazón no anticuerpo puede incluir, por ejemplo, la totalidad o parte de: el dominio Z de la proteína A de *S. aureus*, transferrina humana, décimo dominio de fibronectina humana tipo III, dominio kunitz de un inhibidor de tripsina humano, CTLA-4 humano, una proteína de repetición de anquirina, una lipocalina humana, cristalina humana, ubiquitina humana o un inhibidor de tripsina de *E. elaterium*. *Id.*

Otros antagonistas de C5 ejemplares incluyen el minicuerpo anti-C5 MB 12/22 (Mubodina®; Adienne Pharma & Biotech, Bergamo, Italia) y una forma variante del minicuerpo fusionado con péptido RGD, MB12/22-RGD (Ergidina®; Adienne Pharma & Biotech, Bergamo, Italia). MB12/22 y MB12/22-RGD derivan de un scFv de anti-C5, Ts-a12/22, que se describe en la publicación de solicitud de patente internacional número WO 2004/007553. MB-12/22 y MB-12/22-RGD reconocen un epítipo que comprende el sitio de escisión de la C5 convertasa ubicado entre los aminoácidos 733 y 734 del polipéptido C5 (SEQ ID NO: 2). Otros anticuerpos anti-C5 que reconocen diversos epítopos en la cadena alfa o en la cadena beta de la molécula C5 e inhiben la actividad hemolítica mediada por el complemento, se describen en la publicación de solicitud de patente internacional número WO 2010/015608. Los aptámeros de unión C5, ARC187 y ARC1905 (disponibles comercialmente de Archemix/Ophthotech Corp., Princeton, NJ), se describen en la publicación de solicitud de patente de EE. UU. número 20070048248. OmCI, una proteína excretada por la garrapata blanda *Omithodoros moubata*, es un inhibidor de origen natural de la actividad de C5. También se ha descrito una variante recombinante de OmCI, rev576 (Hepburn et al. (2007) *J Biol Chem* 282:8292-8299 y Soltys et al. (2009) *Ann*

Neurol 65:67-75). Otro inhibidor de origen natural de la actividad de C5 es la proteína SSL7 secretada por *Staphylococcus aureus* (Laursen et al. (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. 107:3681-3686).

Los métodos para determinar si un agente es un antagonista de C5 son bien conocidos en la técnica. Los antagonistas de C5 descritos en el presente documento tienen actividad en el bloqueo de la generación o actividad de los fragmentos activos C5a y/o C5b de una proteína componente C5 del complemento (por ejemplo, una proteína C5 humana). A través de este efecto bloqueante, los antagonistas de C5 inhiben, por ejemplo, los efectos proinflamatorios de C5a y la generación del complejo de ataque a membrana (MAC) C5b-9 en la superficie de una célula.

La inhibición del componente C5 del complemento humano también puede reducir la capacidad de lisis celular del complemento en los fluidos corporales de un sujeto. Dichas reducciones de la capacidad de lisis celular del complemento presente en los fluidos corporales pueden medirse mediante métodos bien conocidos en la técnica, tal como, por ejemplo, mediante un ensayo hemolítico convencional tal como el ensayo de hemólisis descrito por Kabat y Mayer (eds.), "Experimental Immunochimistry, 2ª Edición", 135-240, Springfield, IL, CC Thomas (1961), páginas 135-139, o una variación convencional de ese ensayo, tal como el método de hemólisis de eritrocitos de pollo como se describe en, por ejemplo, Hillmen et al. (2004) N Engl J Med 350(6):552. Los métodos para determinar si un agente inhibe la escisión de C5 humano en las formas C5a y C5b se conocen en la técnica y se describen en, por ejemplo, Moongkarndi et al. (1982) Immunobiol. 162:397; Moongkarndi et al. (1983) Immunobiol. 165:323; Isenman et al. (1980) J Immunol. 124(1):326-31; Thomas et al. (1996) Mol. Immunol. 33(17-18):1389-401; y Evans et al. (1995) Mol. Immunol. 32(16): 1183-95. Por ejemplo, la concentración y/o actividad fisiológica de C5a y C5b en un fluido corporal puede medirse mediante métodos bien conocidos en la técnica. Los métodos para medir la concentración o actividad de C5a incluyen, por ejemplo, ensayos de quimiotaxis, RIA o ELISA (véanse, por ejemplo, Ward and Zvaifler (1971) J Clin Invest. 50(3):606-16 y Wurzner et al. (1991) Complement Inflamm. 8:328-340). Para C5b, pueden usarse ensayos hemolíticos o ensayos para determinar C5b-9 soluble como se analiza en el presente documento. También se pueden usar otros ensayos conocidos en la técnica. Usando ensayos de estos u otros tipos adecuados, se pueden explorar agentes capaces de inhibir el componente C5 del complemento humano.

Se pueden usar técnicas inmunológicas tal como, pero sin limitación, ELISA para medir la concentración de proteína de C5 y/o sus productos de corte y empalme para determinar la capacidad de un compuesto de prueba para inhibir la conversión de C5 en sus productos biológicamente activos. Se puede medir la generación de C5a. Los anticuerpos específicos de neoepítipo C5b-9 pueden usarse para detectar la formación de complemento terminal.

Los ensayos hemolíticos pueden usarse para determinar la actividad inhibitoria de un supuesto antagonista de C5 sobre la activación del complemento. Para determinar el efecto de un antagonista de C5 en la hemólisis mediada por la vía clásica del complemento en una solución de prueba de suero *in vitro*, por ejemplo, se usan eritrocitos de oveja recubiertos con hemolisina o eritrocitos de pollo sensibilizados con anticuerpos anti-eritrocitos de pollo como células diana. El porcentaje de lisis se normaliza considerando un 100% de lisis igual a la lisis que se produce en ausencia del inhibidor. La ruta clásica del complemento puede ser activada por un anticuerpo IgM humano, por ejemplo, como se utiliza en el Kit de Complemento de Ruta Clásica Wieslab® (Wieslab® COMPLCP310, Euro-Diagnostica, Suecia). Brevemente, el suero de prueba se incuba con un compuesto de prueba en presencia de un anticuerpo IgM humano. La cantidad de C5b-9 que se genera se mide poniendo en contacto la mezcla con un anticuerpo anti-C5b-9 conjugado con enzima y un sustrato fluorogénico y midiendo la absorbancia a la longitud de onda apropiada. Como control, el suero de prueba se incuba en ausencia del supuesto antagonista de C5. El suero de prueba puede ser un suero deficiente en C5 reconstituido con un polipéptido C5.

Para determinar el efecto del supuesto antagonista de C5 en la hemólisis mediada por la vía alternativa, se usan eritrocitos de conejo o cobaya no sensibilizados como células diana. La solución de prueba de suero puede ser un suero deficiente en C5 reconstituido con un polipéptido C5. El porcentaje de lisis se normaliza considerando un 100% de lisis igual a la lisis que se produce en ausencia del inhibidor. La ruta alternativa del complemento puede ser activada por moléculas de lipopolisacáridos, por ejemplo, tal como se utiliza en el Kit de Complemento de Ruta Alternativa Wieslab® (Wieslab® COMPLAP330, Euro-Diagnostica, Suecia). Brevemente, el suero de prueba se incuba con un compuesto de prueba en presencia de lipopolisacáridos. La cantidad de C5b-9 que se genera se mide poniendo en contacto la mezcla con un anticuerpo anti-C5b-9 conjugado con enzima y un sustrato fluorogénico y midiendo la fluorescencia a la longitud de onda apropiada. Como control, el suero de prueba se incuba en ausencia del compuesto de prueba.

La actividad de C5, o la inhibición de la misma, puede cuantificarse usando un ensayo CH50eq. El ensayo CH50eq es un método para medir la actividad del complemento clásico total en suero. Esta prueba es un ensayo lítico, que utiliza eritrocitos sensibilizados con anticuerpos como el activador de la vía clásica del complemento y varias diluciones del suero de prueba para determinar la cantidad necesaria para dar un 50 % de lisis (CH50). El porcentaje de hemólisis se puede determinar, por ejemplo, usando un espectrofotómetro. El ensayo CH50eq proporciona una medida indirecta de la formación del complejo del complemento terminal (TCC), ya que los propios TCC son directamente responsables de la hemólisis que se mide.

El ensayo es bien conocido y comúnmente practicado por los expertos en la materia. Brevemente, para activar la vía clásica del complemento, se añaden muestras de suero sin diluir (por ejemplo, muestras de suero humano

reconstituido) a los pocillos de microensayo que contienen los eritrocitos sensibilizados con anticuerpos para generar el TCC. A continuación, los sueros activados se diluyen en pocillos de microensayo, que se recubren con un reactivo de captura (por ejemplo, un anticuerpo que se une a uno o más componentes del TCC). El TCC presente en las muestras activadas se une a los anticuerpos monoclonales que recubren la superficie de los pocillos de microensayo.

5 Los pocillos se lavan y a cada pocillo se le añade un reactivo de detección que se marca de manera detectable y reconoce el TCC unido. El marcador detectable puede ser, por ejemplo, un marcador fluorescente o un marcador enzimático. Los resultados del ensayo se expresan en unidades equivalentes de CH50 por mililitro (U Eq de CH50/ml).

10 Los métodos para determinar la semivida de un agente terapéutico (por ejemplo, un antagonista de C5 como un anticuerpo anti-C5), así como los cambios en la semivida (por ejemplo, aumentos en la semivida), son bien conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, la Publicación de solicitud de patente internacional n.º WO 2010/151526; la Publicación de solicitud de patente internacional n.º WO 98/23289; la Publicación de solicitud de patente internacional n.º WO 97/34631; la patente de Estados Unidos n.º 6.277.375; la publicaciones de solicitud de patente internacional números WO 93/15199, WO 93/15200 y WO 01/77137; la Patente Europea N.º EP 413 622; y la publicación de la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 20110111406. Véase también Hinton et al. (2006) J Immunol 176:346-356.

Métodos de Tratamiento

20 Los métodos descritos en el presente documento incluyen administrar a un sujeto (p. ej., un ser humano) un compuesto que reduce la concentración de un antígeno al que se une un agente terapéutico (p. ej., el componente C5 del complemento humano) y, en el contexto de la concentración reducida del antígeno (por ejemplo, C5), administrar al ser humano el agente terapéutico (por ejemplo, un antagonista de C5 tal como un anticuerpo anti-C5).

25 Los compuestos y agentes (por ejemplo, antagonistas de C5) descritos en el presente documento pueden administrarse a un sujeto, por ejemplo, un sujeto humano, usando una variedad de métodos que dependen, en parte, de la vía de administración. La vía puede ser, por ejemplo, inyección o infusión intravenosa (IV), inyección subcutánea (SC), inyección intraperitoneal (IP) o inyección intramuscular (IM).

30 La administración se puede lograr mediante, por ejemplo, infusión local, inyección o por medio de un implante. El implante puede ser un material poroso, no poroso, o gelatinoso, incluyendo membranas, tales como membranas sialásticas o fibras. El implante se puede configurar para la liberación sostenida o periódica de la composición al sujeto. Véanse, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 20080241223; las patentes de Estados Unidos números 5.501.856; 4.863.457; y 3.710.795; el documento EP488401; y el documento EP430539. Una composición descrita en el presente documento (por ejemplo, un compuesto y/o un antagonista de C5) puede administrarse al sujeto mediante un dispositivo implantable basado en, por ejemplo, sistemas difusivos, erosionables o conectivos, por ejemplo, bombas osmóticas, implantes biodegradables, sistemas de electrodifusión, sistemas de electroósmosis, bombas de presión de vapor, bombas electrolíticas, bombas efervescentes, bombas piezoeléctricas, sistemas basados en la erosión o sistemas electromecánicos.

40 Una composición descrita en el presente documento puede suministrarse terapéuticamente a un sujeto mediante administración local. Como se usa en el presente documento, "administración local" o "suministro local", se refiere al suministro que no depende del transporte de la composición o agente a su sitio o tejido diana deseado a través del sistema vascular. Por ejemplo, la composición puede administrarse por inyección o implantación de la composición o agente o por inyección o implantación de un dispositivo que contiene la composición o agente. Después de la administración local en la vecindad de un sitio o tejido diana, un antagonista de C5, por ejemplo, puede difundirse al sitio o tejido diana previsto.

50 Una composición descrita en el presente documento puede administrarse localmente a una articulación (por ejemplo, una articulación articulada). Por ejemplo, cuando el trastorno es artritis, se puede administrar una composición terapéuticamente apropiada directamente a una articulación (por ejemplo, en un espacio articular) o en la vecindad de una articulación. Ejemplos de articulaciones intraarticulares a las que se puede administrar localmente una composición descrita en el presente documento incluyen, por ejemplo, la cadera, rodilla, codo, muñeca, esternoclavicular, temperomandibular, carpiana, tarsiana, tobillo y cualquier otra articulación sujeta a afecciones artríticas. Una composición descrita aquí también se puede administrar a una bolsa sinovial tal como, por ejemplo, acromial, bicipitoradial, cubitoradial, deltoides, infrapatelar, isquiática y cualquier otra bolsa sinovial conocida en la técnica de la medicina.

60 Una composición descrita en el presente documento puede administrarse localmente al ojo. Como se usa en el presente documento, el término "ojo" se refiere a cualquiera y la totalidad de los tejidos y estructuras anatómicos asociados con el ojo. El ojo tiene una pared compuesta de tres capas distintas: la esclerótica externa, la capa coroidea media y la retina interna. La cámara detrás de la lente está llena de un fluido gelatinoso denominado humor vítreo. En la parte posterior del ojo está la retina, que detecta la luz. La córnea es un tejido ópticamente transparente, que transmite imágenes a la parte posterior del ojo. La córnea incluye una vía para la penetración de fármacos en el ojo. Otras estructuras de tejido anatómico asociadas con el ojo incluyen el sistema de drenaje lagrimal, que incluye un sistema secretor, un sistema distributivo y un sistema excretor. El sistema secretor comprende secretores que son estimulados por el parpadeo y el cambio de temperatura debido a la evaporación lagrimal y secretores reflejos que

tienen un suministro del nervio parasimpático eferente y secretan lágrimas en respuesta a la estimulación física o emocional. El sistema distributivo incluye los párpados y el menisco lagrimal alrededor de los bordes del párpado de un ojo abierto, que esparce lágrimas sobre la superficie ocular parpadeando, reduciendo así el desarrollo de áreas secas.

Una composición (por ejemplo, uno o ambos del compuesto y un antagonista de C5) descrita en el presente documento se puede administrar a la cámara posterior del ojo. Una composición descrita en el presente documento puede administrarse por vía intravítrea. Una composición descrita en el presente documento puede administrarse por vía transesclerótica.

En, por ejemplo, el tratamiento o la prevención de un trastorno como la EPOC o el asma, puede administrarse una composición (por ejemplo, un antagonista de C5) descrita en el presente documento a un sujeto a través del pulmón. El suministro pulmonar del fármaco se puede lograr por inhalación, y la administración por inhalación en el presente documento puede ser oral y/o nasal. Ejemplos de dispositivos farmacéuticos para suministro pulmonar incluyen inhaladores de dosis medida, inhaladores de polvo seco (DPI, por sus siglas en inglés) y nebulizadores. Por ejemplo, una composición descrita en el presente documento puede administrarse a los pulmones de un sujeto mediante un inhalador de polvo seco. Estos inhaladores son dispositivos sin propulsores que suministran formulaciones de polvo seco dispersables y estables a los pulmones. Los inhaladores de polvo seco son bien conocidos en técnica de la medicina e incluyen, sin limitación: el TurboHaler® (AstraZeneca; Londres, Inglaterra); el inhalador AIR® (Alkermes®; Cambridge, Massachusetts); Rotahaler® (GlaxoSmithKline; Londres, Inglaterra); y Eclipse™ (Sanofi-Aventis; París, Francia). Véanse también, por ejemplo, publicaciones PCT números WO 04/026380, WO 04/024156 y WO 01/78693. Los dispositivos DPI se han utilizado para la administración pulmonar de polipéptidos tales como la insulina y la hormona del crecimiento. Una composición descrita en el presente documento puede administrarse por vía intrapulmonar por medio de un inhalador de dosis medida. Estos inhaladores dependen de un propelente para suministrar una dosis discreta de un compuesto a los pulmones.

Puede administrarse una composición (por ejemplo, un antagonista de C5) descrita en el presente documento a los pulmones de un sujeto por medio de un nebulizador. Los nebulizadores usan aire comprimido para suministrar un compuesto como un aerosol licuado o vaho. Un nebulizador puede ser, por ejemplo, un nebulizador de chorro (por ejemplo, nebulizadores de chorro de aire o líquido) o un nebulizador ultrasónico. Dispositivos adicionales y métodos de administración intrapulmonar se exponen en, por ejemplo, las publicaciones de Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 20050271660 y 20090110679.

Las composiciones proporcionadas en el presente documento se presentan en forma de dosificación unitaria, que puede ser particularmente adecuado para la autoadministración. Por ejemplo, el compuesto que reduce la concentración en suero de un antígeno (p. ej., C5 humano) puede formularse para autoadministrarse (p. ej., autoadministración subcutánea). Un producto formulado de la presente divulgación se puede incluir dentro de un recipiente, normalmente, por ejemplo, un vial, cartucho, jeringa precargada o inyector de pluma desechable. También puede usarse un dosificador tal como el dispositivo dosificador descrito en la Patente de Estados Unidos N.º 6.302.855, por ejemplo, con un sistema de inyección de la presente divulgación.

Un sistema de inyección de la presente divulgación puede emplear un inyector de pluma de suministro como se describe en la Patente de los Estados Unidos N.º 5.308.341. Los dispositivos de inyector de pluma, más comúnmente utilizados para el autosuministro de insulina a pacientes con diabetes, son bien conocidos en la técnica. Dichos dispositivos pueden comprender al menos una aguja de inyección (p. ej., una aguja de calibre 31 de aproximadamente 5 a 8 mm de longitud), generalmente se cargan previamente con una o más dosis unitarias terapéuticas de una solución terapéutica y son útiles para suministrar rápidamente la solución a un sujeto con el menor dolor posible.

Un inyector de pluma de suministro del medicamento incluye un soporte del vial en el que se puede recibir un vial de insulina u otro medicamento. El soporte del vial es una estructura generalmente tubular alargada con extremos proximales y distales. El extremo distal del soporte del vial incluye medios de montaje para conectar una cánula de aguja de doble punta. El extremo proximal también incluye medios de montaje para conectar un cuerpo de inyector de pluma que incluye un impulsor y un aparato de ajuste de dosis. Un medicamento desechable (por ejemplo, una solución de alta concentración de una composición descrita en el presente documento) que contiene un vial para su uso con el soporte del vial de la técnica anterior incluye un extremo distal que tiene un tabique elastomérico perforable que puede perforarse por un extremo de una cánula de aguja de doble punta. El extremo proximal de este vial incluye un tapón dispuesto de manera deslizante en un conector hermético para los fluidos con la pared cilíndrica del vial. Este inyector de pluma de suministro del medicamento se utiliza insertando el vial del medicamento en el soporte del vial. Después se conecta un cuerpo del inyector de pluma al extremo proximal del soporte del vial. El cuerpo del inyector de pluma incluye un aparato de ajuste de dosis para designar una dosis de medicamento que se suministrará con el inyector de pluma y un aparato de accionamiento para impulsar el tapón del vial de manera distal a una distancia correspondiente a la dosis seleccionada. El usuario del inyector de pluma monta una cánula de aguja de doble punta en el extremo distal del soporte del vial de manera que el punto proximal de la cánula de la aguja atraviese el tabique en el vial. Después, el paciente selecciona una dosis y activa el inyector de pluma para instar al tapón distalmente a suministrar la dosis seleccionada. El aparato de selección de dosis vuelve a cero tras la inyección de la dosis seleccionada. Después, el paciente retira y desecha la cánula de la aguja, y mantiene el inyector de pluma de suministro del

medicamento en un lugar conveniente para la próxima administración de medicamento requerida. La medicación en el vial se agotará después de varias administraciones de medicación. Después, el paciente separa el soporte del vial del cuerpo del inyector de pluma. El vial vacío se puede retirar y desechar. Se puede insertar un nuevo vial en el soporte del vial, y el soporte del vial y el cuerpo del inyector de pluma se pueden volver a montar y usar como se explica anteriormente. Por consiguiente, un inyector de pluma de suministro de medicamentos generalmente tiene un mecanismo de impulsión para una dosificación precisa y facilidad de uso.

Un mecanismo de dosificación, tal como una perilla giratoria, permite al usuario ajustar con precisión la cantidad de medicamento que el inyector de pluma inyectará desde un vial de medicamento envasado previamente. Para inyectar la dosis de medicamento, el usuario inserta la aguja debajo de la piel y presiona la perilla una vez hasta el punto en que bajará. El inyector de pluma puede ser un dispositivo completamente mecánico o puede combinarse con un circuito electrónico para configurar y/o indicar con precisión la dosis de medicamento que se inyecta en el usuario. Véase, p. ej., la Patente de EE.UU. N.º 6.192.891.

La aguja del dispositivo de inyector de pluma es desechable y los kits incluyen una o más agujas de reemplazo desechables. Los dispositivos de inyector de pluma adecuados para el suministro de una cualquiera de las composiciones presentadas actualmente también se describen en, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos números 6.277.099; 6.200.296; y 6.146.361. Un dispositivo de inyector de pluma basado en microagujas se describe en, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 7.556.615. Véase también el dispositivo Precision Pen Injector (PPI), Molly™, fabricado por Scandinavian Health Ltd.

La presente divulgación también presenta formulaciones de liberación controlada o de liberación prolongada adecuadas para la administración crónica y/o autoadministración de un medicamento tal como una composición (por ejemplo, un compuesto o un antagonista de C5) descrita en el presente documento. Las diversas formulaciones se pueden administrar a un paciente que necesite tratamiento con el medicamento en bolo o mediante infusión continua durante un período de tiempo.

Una composición de alta concentración (por ejemplo, un compuesto o un antagonista de C5 de alta concentración) descrita en el presente documento puede formularse para administración de liberación sostenida, liberación prolongada, liberación programada, liberación controlada o liberación continua. Las formulaciones de depósito pueden usarse para administrar la composición al sujeto que lo necesite. En el presente método, la composición está formulada con uno o más vehículos que proporcionan una liberación gradual de agente activo durante un período de varias horas o días. Dichas formulaciones con frecuencia, se basan en una matriz degradadora que se dispersa gradualmente en el cuerpo para liberar el agente activo.

Tal como se indica anteriormente, el compuesto y el agente terapéutico (p. ej., el antagonista de C5) pueden administrarse a un ser humano por diferentes vías. Por ejemplo, el compuesto, tal como un ARNip que se dirige a C5, puede administrarse por vía subcutánea (por ejemplo, una vez a la semana) y el antagonista de C5 (por ejemplo, un anticuerpo anti-C5 como eculizumab) puede administrarse por vía intravenosa (por ejemplo, una vez al mes o una vez cada dos meses).

Una dosis adecuada de una composición dada descrita en el presente documento, cuya dosis es capaz de tratar o prevenir un trastorno en un sujeto, puede depender de una variedad de factores que incluyen, por ejemplo, la edad, sexo y el peso de un sujeto a tratar y el compuesto inhibidor particular utilizado. Otros factores pueden incluir, por ejemplo, otros trastornos médicos que afectan al sujeto de manera concurrente o previa, la salud general del sujeto, la disposición genética del sujeto, la dieta, el tiempo de administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos y cualquier otro agente terapéutico adicional que se administre al sujeto. También debe entenderse que una dosis y un régimen de tratamiento específicos para cualquier sujeto en particular también dependerá del juicio del facultativo médico tratante (por ejemplo, médico o enfermera).

Una composición descrita en el presente documento puede administrarse como una dosis fija, o en una dosis de miligramo por kilogramo (mg/kg). La dosis también se puede elegir para reducir o evitar la producción de anticuerpos u otras respuestas inmunitarias del hospedador contra un compuesto o un agente terapéutico (tal como un antagonista de C5). Aunque de ninguna manera pretende ser limitante, las dosis ejemplares de un anticuerpo, tal como una composición descrita en el presente documento incluyen, por ejemplo, 1-1000 mg/kg, 1-100 mg/kg, 0,5-50 mg/kg, 0,1-100 mg/kg, 0,5-25 mg/kg, 1-20 mg/kg y 1-10 mg/kg. Dosis ejemplares de una composición descrita en el presente documento incluyen, pero sin limitación, 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg, 4 mg/kg, 8 mg/kg o 20 mg/kg.

Una composición farmacéutica puede incluir una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición descrita en el presente documento. Dichas cantidades eficaces se pueden determinar fácilmente por un experto en la materia basándose, en parte, en el efecto de la composición administrada, o el efecto combinatorio de la composición y uno o más agentes activos adicionales, si se usa más de un agente. Una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición descrita en el presente documento, también puede variar dependiendo de factores tales como la patología, edad, sexo y peso del individuo, y la capacidad de la composición (y uno o más agentes activos) de inducir una respuesta deseada en el individuo, por ejemplo, mejora de al menos una variable de la afección, por ejemplo, la mejora de al menos un síntoma del trastorno mediado por el complemento. Por ejemplo, una cantidad

terapéuticamente eficaz de una composición descrita en el presente documento puede inhibir (disminuir la gravedad o eliminar la aparición de) y/o prevenir un trastorno particular, y/o uno cualquiera de los síntomas del trastorno particular conocido en la técnica o descrito en el presente documento. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es una en la que los efectos tóxicos o perjudiciales de la composición se ven superados por los efectos terapéuticamente

5

Las dosis para seres humanos adecuadas de cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento (por ejemplo, un compuesto o un antagonista de C5) se pueden evaluar adicionalmente en, por ejemplo, estudios de intensificación de dosis de fase I. Véanse, por ejemplo, van Gurp et al. (2008) *Am J Transplantation* 8(8): 1711-1718; Hanouska et al. (2007) *Clin Cancer Res* 13(2, parte 1):523-531; y Hetherington et al. (2006) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50(10): 3499-3500. Por ejemplo, las dosis adecuadas y/o la frecuencia de las dosis de un compuesto necesario para reducir la concentración en suero de C5 se pueden determinar usando tales métodos.

10

La toxicidad y la eficacia terapéutica de tales composiciones (p. ej., el compuesto o el antagonista de C5) se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos conocidos en cultivos celulares o animales experimentales (p. ej., modelos animales de cualquiera de los trastornos mediados por el complemento descritos en el presente documento). Estos procedimientos se pueden usar, por ejemplo, para determinar la DL_{50} (la dosis letal para el 50 % de la población) y la DE_{50} (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población). La relación de la dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la proporción DL_{50}/DE_{50} . Se prefieren las composiciones descritas en el presente documento que muestran un alto índice terapéutico. Aunque pueden usarse composiciones que muestren efectos secundarios tóxicos, ha de tenerse cuidado de diseñar un sistema de suministro que dirija dichos compuestos al sitio de tejido afectado y minimizar el daño potencial a células normales y, de este modo, reducir los efectos secundarios.

15

20

Los datos obtenidos de los ensayos de cultivo celular y de estudios en animales pueden usarse para formular un intervalo de dosificación para su uso en seres humanos. La dosificación de la composición descrita en el presente documento se encuentra preferentemente dentro del intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la DE_{50} con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada. Para una composición descrita en el presente documento, se puede estimar la dosis terapéuticamente eficaz inicialmente a partir de los ensayos de cultivo celular. Puede formularse una dosis en modelos animales para lograr un intervalo de concentración circulante en plasma que incluye la CI_{50} (es decir, la concentración del anticuerpo que logra una inhibición semimáxima de los síntomas) según se determina en cultivo celular. Dicha información se puede usar para determinar de manera más precisa las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, mediante cromatografía líquida de alto rendimiento. El cultivo celular o el modelado animal pueden usarse para determinar una dosis necesaria para lograr una concentración terapéuticamente eficaz dentro del sitio local, por ejemplo, donde se desea la administración local (por ejemplo, al ojo o una articulación).

25

30

35

Los métodos se pueden realizar junto con otras terapias para trastornos asociados al complemento. Por ejemplo, la composición puede administrarse a un sujeto al mismo tiempo, antes de o después, de plasmaféresis, terapia con IGIV o intercambio de plasma. Véase, por ejemplo, Appel et al. (2005) *J Am Soc Nephrol* 16:1392-1404. La composición puede administrarse a un sujeto al mismo tiempo, antes de o después, de un trasplante de riñón.

40

Un "sujeto", como se usa en el presente documento, puede ser cualquier mamífero. Por ejemplo, un sujeto puede ser un ser humano, un primate no humano (por ejemplo, orangután, gorila, macaco, babuino o chimpancé), un caballo, una vaca, un cerdo, una oveja, una cabra, un perro, un gato, un conejo, una cobaya, un jerbo, un hámster, una rata o un ratón. El sujeto puede ser un bebé (por ejemplo un niño humano).

45

Como se usa en el presente documento, un sujeto "que necesita prevención", "que necesita tratamiento", o "que lo necesita", se refiere a uno que, a juicio de un facultativo médico apropiado (por ejemplo, un médico, una enfermera, o un profesional de enfermería en el caso de seres humanos; un veterinario en el caso de mamíferos no humanos), se beneficiaría razonablemente de un tratamiento dado.

50

El término "prevención" está reconocido en la técnica, y cuando se usa en relación con una afección, se conoce bien en la técnica, e incluye la administración de una composición que reduce la frecuencia de, o retrasa la aparición de, síntomas de una afección médica en un sujeto en relación con un sujeto que no recibe una composición descrita en el presente documento. Por consiguiente, la prevención de un trastorno asociado al complemento, tal como el asma, incluye, por ejemplo, reducir el alcance o la frecuencia de tos, sibilancias o dolor de pecho en una población de pacientes que reciben un tratamiento profiláctico en relación con una población de control no tratada, y/o retrasar la aparición de tos o sibilancias en una población tratada frente a una población de control no tratada, por ejemplo, en una cantidad estadística y/o clínicamente significativa.

55

60

Tal como se describe anteriormente, las composiciones descritas en el presente documento (p. ej., antagonistas de C5 tales como anticuerpos anti-C5) pueden usarse para tratar una variedad de trastornos asociados al complemento tales como, pero sin limitación: artritis reumatoide (AR); nefritis por lupus; lesión por isquemia-reperusión; síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS, por sus siglas en inglés); síndrome urémico hemolítico típico o infeccioso (tHUS,

65

por sus siglas en inglés); enfermedad por depósitos densos (DDD); hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH); esclerosis múltiple (EM); degeneración macular (p. ej., degeneración macular relacionada con la edad (AMD); hemólisis, síndrome de enzimas hepáticas elevadas y plaquetas bajas (HELLP); septicemia; dermatomiositis; retinopatía diabética; púrpura trombocitopénica trombótica (TTP); pérdida fetal espontánea; vasculitis pauciinmunitaria; epidermolisis ampollosa; pérdida fetal recurrente; y lesión cerebral traumática. Véanse, por ejemplo, Holers (2008) *Immunological Reviews* 223:300-316 y Holers and Thurman (2004) *Molecular Immunology* 41:147-152. El trastorno mediado por el complemento es un trastorno vascular mediado por el complemento, tal como, pero sin limitación, un trastorno cardiovascular, miocarditis, un trastorno cerebrovascular, un trastorno vascular periférico (por ejemplo, musculoesquelético), un trastorno renovascular, un trastorno vascular mesentérico/entérico, revascularización a trasplantes y/o reimplantes, vasculitis, Nefritis púrpura de Henoch-Schonlein, vasculitis asociada a lupus eritematoso sistémico, vasculitis asociada con artritis reumatoide, vasculitis del complejo inmunitario, trasplante de órganos o tejidos, Enfermedad de Takayasu, síndrome de fuga capilar, cardiomiopatía dilatada, angiopatía diabética, aneurisma aórtico torácico-abdominal, enfermedad de Kawasaki (arteritis), embolia gaseosa venosa (EGV) y restenosis después de la colocación de la endoprótesis vascular, aterectomía rotacional y angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP). (Véase, por ejemplo, la Publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 20070172483.) El trastorno asociado al complemento puede ser miastenia grave, enfermedad por crioaglutininas (CAD), hemoglobinuria paroxística por frío (PCH, por sus siglas en inglés), dermatomiositis, esclerodermia, anemia hemolítica autoinmunitaria por anticuerpos calientes, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, diabetes de tipo I, psoriasis, pénfigo, anemia hemolítica autoinmunitaria (AIHA), púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), síndrome de Goodpasture, síndrome antifosfolípido (APS, por sus siglas en inglés), enfermedad de Degos y APS catastrófico (CAPS, por sus siglas en inglés). En la invención, el trastorno es síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS); síndrome urémico hemolítico típico o infeccioso (THUS) o la hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH).

Una composición descrita en el presente documento se puede usar para tratar un trastorno inflamatorio, pero sin limitación, AR (anteriormente), enfermedad inflamatoria intestinal, sepsis (anteriormente), choque séptico, lesión pulmonar aguda, coagulación intravascular diseminada (DIC, por sus siglas en inglés) o enfermedad de Crohn. El segundo agente antiinflamatorio puede seleccionarse del grupo que consiste en AINE, corticoesteroides, metotrexato, hidroxyclorequina, agentes anti-TNF tal como etanercept e infliximab, un agente que agota los linfocitos B tal como rituximab, un antagonista de interleucina-1 o un agente bloqueante coestimulador de linfocitos T tal como abatacept.

El trastorno asociado al complemento es un trastorno neurológico asociado al complemento, tal como, pero sin limitación, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), lesión cerebral, enfermedad de Alzheimer y neuropatía desmielinizante inflamatoria crónica.

Los trastornos asociados al complemento también incluyen trastornos pulmonares asociados al complemento, tales como, pero sin limitación, asma, bronquitis, una enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad pulmonar intersticial, deficiencia de antitripsina α -1, enfisema, bronquiectasia, bronquiolitis obliterante, alveolitis, sarcoidosis, fibrosis pulmonar y trastornos vasculares del colágeno.

Una composición descrita en el presente documento puede administrarse a un sujeto para tratar, prevenir o mejorar al menos un síntoma de una respuesta inflamatoria asociada al complemento (por ejemplo, el aspecto de respuesta inflamatoria asociada al complemento de un trastorno asociado al complemento) en un sujeto. Por ejemplo, se puede usar una composición para tratar, prevenir y/o mejorar uno o más síntomas asociados con una respuesta inflamatoria asociada al complemento, tal como el rechazo del injerto/enfermedad de injerto contra huésped (GVHD, por sus siglas en inglés), lesiones por reperfusión (por ejemplo, después de una derivación cardiopulmonar o un trasplante de tejido), y daño tisular después de otras formas de lesión traumática, tal como una quemadura (por ejemplo, una quemadura severa), un traumatismo cerrado, una lesión en la columna o una congelación. Véanse, por ejemplo, Park et al. (1999) *Anesth Analg* 99(1):42-48; Tofukuji et al. (1998) *J Thorac Cardiovasc Surg* 116(6):1060-1068; Schmid et al. (1997) *Shock* 8(2): 119-124; y Bless et al. (1999) *Am J Physiol* 276(1):L57-L63.

Monitorizar a un sujeto (p. ej., un paciente humano) en busca de una mejora en un trastorno (p. ej., septicemia, quemadura grave, AR, nefritis por lupus, síndrome de Goodpasture o asma), tal como se define en el presente documento, significa evaluar al sujeto en busca de una variable de la enfermedad, por ejemplo, una mejora en uno o más síntomas de un trastorno dado. Los síntomas de muchos de los trastornos anteriores (por ejemplo, trastornos asociados al complemento) son bien conocidos en la técnica de la medicina. La evaluación se puede realizar al menos una (1) hora, por ejemplo, al menos 2, 4, 6, 8, 12, 24, o 48 horas o, al menos, 1 día, 2 días, 4 días, 10 días, 13 días, 20 días o más o al menos 1 semana, 2 semanas, 4 semanas, 10 semanas, 13 semanas, 20 semanas o más, después de una administración de una composición descrita en el presente documento. El sujeto puede ser evaluado en uno o más de los siguientes períodos: antes del comienzo del tratamiento; durante el tratamiento; o después de que se hayan administrado uno o más elementos del tratamiento. La evaluación puede incluir evaluar la necesidad de un tratamiento adicional, por ejemplo, evaluar si se debe alterar una dosis, frecuencia de administración o duración del tratamiento. También puede incluir evaluar la necesidad de añadir o eliminar una modalidad terapéutica seleccionada, por ejemplo, añadir o eliminar cualquiera de los tratamientos para un trastorno asociado al complemento descritos en el presente documento.

El compuesto que reduce la concentración de C5 en suero se puede administrar a un ser humano en una cantidad y

con una frecuencia suficiente para reducir la concentración de C5 en suero. En el contexto de una concentración reducida de C5 en suero, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de C5 al ser humano, por ejemplo, en una cantidad y con una frecuencia suficiente para mantener la actividad del complemento en suero por debajo del 20 % del nivel de actividad del complemento en un ser humano en ausencia del antagonista de C5 o cualquier otro antagonista del complemento. El compuesto y el antagonista de C5 se pueden administrar al mismo tiempo.

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar, no limitar, la invención.

10 Ejemplos

Ejemplo 1. Tratamiento de un ser humano afectado con PNH

Un facultativo médico identifica a un paciente humano con PNH. El paciente es tratado con un anticuerpo anti-C5 bajo el siguiente esquema de dosis: (i) 600 mg cada semana durante cuatro semanas; (ii) 900 mg 1 semana después; y (iii) 900 mg quincenal a partir de entonces. Después se pone al paciente en un nuevo régimen terapéutico. Se administra crónicamente un ARNip específico de C5 humano al paciente para reducir la concentración de C5 en el suero del paciente. En el contexto de niveles reducidos de C5 en suero, el anticuerpo anti-C5 se administra al paciente a una dosis de 600 mg cada tres meses. El paciente y el facultativo médico continúan observando que al paciente le sigue yendo tan bien con el nuevo régimen terapéutico como con el régimen anterior o incluso puede observar una mejora sustancial en los síntomas y la patología de la PNH con el nuevo régimen.

Ejemplo 2. Impacto de C5 en el aclaramiento de un anticuerpo anti-C5

Para comprender el posible impacto del aclaramiento mediado por antígenos sobre la tasa de aclaramiento global de un anticuerpo anti-C5 humano (hC5), los siguientes experimentos se realizaron usando el modelo de ratón transgénico con receptor de Fc neonatal humano (hFcRn) (los ratones carecen de FcRn endógeno pero son transgénicos para hFcRn (B6.Cg-Fcgrt^{tm1Dcr} Tg(FcGRT)32Dcr/DcrJ; Número de inventario 014565, Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine)). El modelo de hFcRn transgénico se ha descrito en, por ejemplo, Petkova et al. (2006) Int Immunology 18(12):1759-1769; Oiao et al. (2008) Proc Natl Acad Sci USA 105(27):9337-9342; y Roopenian et al. (2010) Methods Mol Biol 602:93-104.

Se administró una dosis única de 50 mg del anticuerpo anti-hC5 en 200 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) mediante inyección intravenosa (i.v.) a cada uno de los seis ratones transgénicos hFcRn. Como alternativa, el anticuerpo anti-hC5 se incubó previamente en una relación molar 4:1 o 2:1 de C5 humano (Complement Technology Inc., Número de Catálogo: A120) a anticuerpo a 4 °C durante la noche y las mezclas se administraron a los animales. Otro grupo más de ratones se trató con la mezcla 4:1 de hC5/anticuerpo anti-hC5 el día 0 (el primer día del experimento) seguido de 250 mg adicionales de hC5 administrados por administración intravenosa el día 1.

Se recogieron muestras de sangre de aproximadamente 100 ml de cada uno de los ratones en los días uno, tres, siete, 14, 21, 28 y 35 después de la administración. La concentración del anticuerpo anti-hC5 en suero se midió por ELISA.

La semivida en suero del anticuerpo se calculó usando la siguiente fórmula:

$$Semivida = T \times \frac{\ln 2}{\ln \frac{A_0}{A_t}}$$

dónde: T = Tiempo transcurrido, A₀ = concentración en suero original del anticuerpo (concentración en el día 1 en el presente estudio) y A_t = cantidad del anticuerpo restante después del tiempo T transcurrido (concentración mínima detectable o el último punto de tiempo de sangrado (día 35) en el presente estudio).

Los resultados del experimento son los siguientes. En ausencia de hC5, la semivida del anticuerpo anti-hC5 en el modelo de ratón hFcRn fue de 13,49 ± 0,93 días. La semivida del anticuerpo anti-hC5 mezclado con un exceso molar de 2 veces de hC5 fue de 9,58 ± 1,24 días. La mezcla del anticuerpo anti-hC5 con un exceso molar de 4 veces de hC5 dio como resultado una semivida del anticuerpo de 5,77 ± 1,86 días. La dosis posterior adicional de hC5 a ratones a los que se administró la mezcla 4:1 de hC5/anticuerpo anti-hC5 redujo la semivida del anticuerpo a 4,55 ± 1,02 días.

Estos resultados indican que la presencia de mayores cantidades de hC5 acorta notablemente la semivida de un anticuerpo anti-hC5. La semivida del anticuerpo depende significativamente de la cantidad de anticuerpo libre en circulación. Los resultados sugieren que una concentración reducida de C5 humano reduciría significativamente el impacto del aclaramiento de anticuerpos mediado por antígeno y, por lo tanto, aumentaría la semivida de un anticuerpo anti-hC5 en un ser humano.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une al C5 del complemento humano para su uso en un método para tratar hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH) o síndrome hemolítico-urémico atípico (aHUS) en un ser humano, comprendiendo el método:
 - (i) administrar al ser humano un ARNip específico para el ARNm que codifica C5 humano para reducir de ese modo la concentración de C5 en el suero del ser humano, seguido de;
 - (ii) administrar al ser humano el anticuerpo de C5 o fragmento del mismo, en donde una concentración reducida de C5 en el suero del ser humano aumenta la semivida en suero del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo administrado al ser humano.
2. Un ARNip específico para el ARNm que codifica C5 del complemento humano para su uso en un método para tratar hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH) o síndrome hemolítico-urémico atípico (aHUS) en un ser humano, comprendiendo el método:
 - (i) administrar al ser humano un ARNip para reducir de ese modo la concentración de C5 en el suero del ser humano, seguido de;
 - (ii) administrar al ser humano el anticuerpo de C5 o fragmento del mismo, en donde una concentración reducida de C5 en el suero del ser humano aumenta la semivida en suero del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo administrado al ser humano.
3. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el ARNip para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el anticuerpo de C5 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, se une a los componentes C5 del complemento e inhibe la escisión de C5 en los fragmentos C5a y C5b.
4. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 o el ARNip para su uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en donde el anticuerpo es eculizumab.
5. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 o el ARNip para su uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en donde el fragmento de unión a antígeno es pexelizumab.
6. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 5 o el ARNip para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en donde el ARNip reduce la concentración en suero de C5 en al menos el 10 %, al menos al 20 % o al menos el 40 %.
7. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 6 o el ARNip para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en donde el ARNip y/o el anticuerpo se administra de forma crónica al ser humano.
8. El anticuerpo o ARNip para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el ARNip se administra al ser humano al menos una vez por semana durante al menos tres semanas, durante al menos seis semanas o durante al menos seis meses.
9. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 8 o el ARNip de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, en donde el anticuerpo y el ARNip se administran al ser humano en diferentes pautas de dosificación.
10. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 9 o el ARNip para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, en donde la semivida en suero del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo se incrementa 2 veces, 5 veces o 10 veces en comparación con la semivida en ausencia de la administración del ARNip.
11. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 10 o el ARNip para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10, en donde la cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo administrado al ser humano que tiene una concentración reducida de C5 es menor que la cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo necesaria sin la reducción en la concentración de C5.
12. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 11 o el ARNip para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 11, en donde la frecuencia de administración del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo al ser humano que tiene una concentración reducida de C5 es, con frecuencia, menor que la frecuencia de administración del anticuerpo de C5 o fragmento del mismo al ser humano necesaria sin la reducción en la concentración de C5.
13. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 12 o el ARNip para su uso

de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 12 en donde el anticuerpo de C5 o fragmento del mismo se agota al menos en parte por aclaramiento mediado por antígeno.

- 5 14. Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une al C5 del complemento humano, para su uso en un método de tratamiento de la hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH) o síndrome hemolítico-urémico atípico (aHUS) en un ser humano, en donde el ser humano tiene una concentración en suero de C5 reducida, en relación con la concentración en suero de C5 normal, como resultado de la administración previa al ser humano de un ARNip específico para el ARNm que codifica C5 humano que reduce la concentración en suero de C5.

Fig. 1.

SEQ ID NO:1 (secuencia del ADNc de C5 humano, Número de registro NCBI M57729).

```

1 ctacctccaa ccatgggcct tttgggaata ctttgttttt taatcttctt ggggaaaacc
61 tggggacagg agcaaacata tgtcatttca gcacaaaaaa tattccgtgt tggagcatct
121 gaaaatattg tgattcaagt ttatggatac actgaagcat ttgatgcaac aatctctatt
181 aaaagttatc ctgataaaaa atttagttac tcctcaggcc atgttcattt atcctcagag
241 aataaattcc aaaactctgc aatcttaaca atacaaccaa aacaattgcc tggaggacaa
301 aacccagttt cttatgtgta tttggaagtt gtatcaaagc atttttcaaa atcaaaaaga
361 atgccaataa cctatgacaa tggatttctc ttcattcata cagacaaacc tgtttatact
421 ccagaccagt cagtaaaagt tagagtttat tcggttgatg acgacttgaa gccagccaaa
481 agagaaactg tcttaacctt catagatcct gaaggatcag aagttgacat ggtagaagaa
541 attgatcata ttggaattat ctcttttctc gacttcaaga ttccgtctaa tcctagatat
601 ggtatgtgga cgatcaaggc taaatataaa gaggactttt caacaactgg aaccgcatat
661 tttgaagtta aagaatatgt cttgccacat ttttctgtct caatcgagcc agaataaat
721 ttcattgggt acaagaactt taagaatttt gaaattacta taaaagcaag atatttttat
781 aataaagtag tcactgaggt tgacgtttat atcacatttg gaataagaga agacttaaaa
841 gatgatcaaa aagaaatgat gcaaacagca atgcaaaaac caatgttgat aaatggaatt
901 gctcaagtca catttgattc tgaaacagca gtcaaagaac tgtcactacta cagtttagaa
961 gattttaaaca acaagtacct ttatatgtct gtaacagtca tagagtctac aggtggattt
1021 tctgaagagg cagaaatacc tggcatcaaa tatgtcctct ctccctacaa actgaatttg
1081 gttgctactc ctcttttctc gaagcctggg attccatata ccatcaagggt gcaggttaaa
1141 gattcgcttg accagttggt aggaggagtc ccagtaatac tgaatgcaca aacaattgat
1201 gtaaaccaag agacatctga cttggatcca agcaaaagtg taacacgtgt tgatgatgga
1261 gtagcttcct ttgtgcttaa tctcccatct ggagtgcagg tgctggagtt taatgtcaaa
1321 actgatgctc cagatcttcc agaagaaaat caggccaggg aaggttaccg agcaatagca
1381 tactcatctc tcagccaaag ttacctttat attgattgga ctgataacca taaggctttg
1441 ctagtgggag aacatctgaa tattattggt acccccaaaa gcccatatat tgacaaaaa
1501 actcactata attacttgat tttatccaag ggcaaaaatta tccatttttg cagagggag
1561 aaattttctc atgcatctta tcaaagtata aacattccag taacacagaa catggttctc
1621 tcatcccgac ttctggtcta ttatatcgtc acaggagaac agacagcaga attagtgtct
1681 gattcagctc gggttaaata tgaagaaaaa tgtggcaacc agctccagggt tcatctgtct
1741 cctgatgcag atgcatattc tccaggccaa actgtgtctc ttaatatggc aactggaatg
1801 gattcctggg tggcatttagc agcagtgagc agtgctgtgt atggagtcca aagaggagcc
1861 aaaaagccct tggaaagagt atttcaattc ttagagaaga gtgatctggg ctgtggggca
1921 ggtggtggcc tcaacaatgc caatgtgttc cacctagctg gacttacctt cctcactaat
1981 gcaaatgcag atgactccca agaaaatgat gaaccttgta aagaaattct caggccaaga
2041 agaacgctgc aaaagaagat agaagaaata gctgctaaat ataaacattc agtagtgaag
2101 aatgtttgtt acgatggagc ctgctgtaat aatgatgaaa cctgtgagca gcgagctgca
2161 cggattagtt tagggccaag atgcatcaaa gcttttactg aatgttgtgt cgtcgcaagc
2221 cagctccgtg ctaatatctc tcataaagac atgcaattgg gaaggctaca catgaagacc
2281 ctggttaccg taagcaagcc agaaattcgg agttattttc cagaaagctg gttgtgggaa
2341 gttcatcttg ttcccagaag aaaacagttg cagtttgccc tacttgattc tctaacacc
2401 tgggaaattc aaggcattgg catttcaaac actggtatat gtgttgctga tactgtcaag
2461 gcaaaggtgt tcaaagatgt cttcctggaa atgaatatac catattctgt tgtacgagga
2521 gaacagaatcc aattgaaagg aactgtttac aactatagga cttctgggat gcagttctgt
2581 gttaaaatgt ctgctgtgga gggaatctgc acttcggaaa gcccagtcac tgatcatcag
2641 ggcacaaaagt cctccaaatg tgtgctgcag aaagtagagg gctcctccag tcaattgggtg
2701 acattcactg tgcttctctc ggaaattggc cttcacaaca tcaatttttc actggagact
2761 tgggtttgaa aagaaatctt agtaaaaaa ttacgagtgg tgccagaagg tgtcaaaagg
2821 gaaagctatt ctggtgttac tttggtcctc aggggtatct atggtaccat tagcagacga
2881 aaggagttcc catacaggat acccttagat ttggtcccca aaacagaaat caaaaggatt

```

Fig. 1. (continuación)

```

2941 ttgagtgttaa aaggactgct thtaggtgag atcttgtctg cagttctaag tcaggaaggc
3001 atcaatatcc taaccacact ccccaaaggg agtgcagagg cggagctgat gagcggtgtc
3061 ccagttattct atgtttttca ctacctggaa acaggaaatc attggaacat ttttcattct
3121 gacccattaa ttgaaaagca gaaactgaag aaaaaattaa aagaagggat gttgagcatt
3181 atgtcctaca gaaatgctga ctactcttac agtgtgtgga aggggtggaag tgctagcact
3241 tgggttaacag cttttgcttt aagagtactt ggacaagtaa ataaatcagt agagcagaac
3301 caaaattcaa tttgtaattc tttattgtgg ctagttagaga attatcaatt agataatgga
3361 tctttcaagg aaaattcaca gtatcaacca ataaaattac aggggtacctt gcctgttgaa
3421 gcccgagaga acagcttata tcttacagcc tttactgtga ttggaattag aaaggctttc
3481 gatatatgcc ccctgggtgaa aatcgacaca gctctaatta aagctgacaa ctttctgctt
3541 gaaaatacac tgccagccca gagcaccttt acattggcca tttctgcgta tgccttttcc
3601 ctgggagata aaactcacc acagtttctg tcaattgttt cagctttgaa gagagaagct
3661 ttgggttaaag gtaatccacc catttatcgt ttttggaag acaatcttca gcataaagac
3721 agctctgtac ctaacactgg tacggcacgt atggtagaaa caactgccta tgctttactc
3781 accagtctga acttgaaaga tataaattat gttaaaccag tcatcaaatt gctatcagaa
3841 gagcagagg atggagggtg cttttattca acccaggaca ccatcaattg cattgagggc
3901 ctgacggaat attcactcct ggttaaacaa ctccgcttga gtatggacat cgatgtttct
3961 tacaagcata aaggtgcctt acataattat aaaatgacag acaagaattt ccttgggagg
4021 ccagtagagg tgcttctcaa tgatgacctc attgtcagta caggatttg cagtggcttg
4081 gctacagtac atgtaacaac tgtagtccac aaaaccagta cctctgagga agtttgagc
4141 ttttatttga aaatcgatac tcaggatatt gaagcatccc actacagagg ctacggaaac
4201 tctgattaca aacgcatagt agcatgtgcc agctacaagc ccagcaggga agaatacatc
4261 tctggatcct ctcatgcggt gatggacatc tccttgccca ctggaatcag tgcaaatgaa
4321 gaagacttaa aagcccttgt ggaaggggtg gatcaactat tcaactgatta ccaaatcaaa
4381 gatggacatg ttattctgca actgaattcg attccctcca gtgatttcct ttgtgtacga
4441 ttccggatat ttgaactctt tgaagttggg tttctcagtc ctgccacttt cacagtttac
4501 gaataccaca gaccagataa acagtgtacc atgttttata gcacttccaa tatcaaaatt
4561 cagaaagtct gtgaaggagc cgcgtgcaag tgtgtagaag ctgattgtgg gcaaatgcag
4621 gaagaattgg atctgacaat ctctgcagag acaagaaaac aaacagcatg taaaccagag
4681 attgcatatg cttataaagt tagcatcaca tccatcactg tagaaaatgt ttttgtcaag
4741 tacaaggcaa cccttctgga tatctacaaa actggggaag ctggtgctga gaaagactct
4801 gagattacct tcattaaaaa ggtaacctgt actaacgctg agctggtaaa aggaagacag
4861 tacttaatta tgggtaaaga agccctccag ataaaatata atttcagttt caggtagatc
4921 taccctttag attccttgac ctggattgaa tactggccta gagacacaac atgttcacg
4981 tgtcaagcat ttttagctaa tttagatgaa tttgccgaag atatctttt aaatggatgc
5041 taaaattcct gaagttcagc tgcatacagt ttgcacttat ggactcctgt tgttgaagtt
5101 cgtttttttg ttttcttctt tttttaaaca ttcataagctg gtcttatttg taaagctcac
5161 tttacttaga attagtggca cttgctttta ttagagaatg atttcaaatt ctgtaacttt
5221 ctgaaataac atggccttg agggcatgaa gacagatact cctccaaggt tatttgacac
5281 cggaacaac aaattggaac acctcctcaa acctaccact caggaatgtt tgctggggcc
5341 gaaagaacag tccattgaaa gggagtatta caaaaacatg gcctttgctt gaaagaaaat
5401 accaaggaac aggaaactga tcattaaagc ctgagtttgc tttc

```

Fig. 2.

SEQ ID NO:2 (secuencia aminoácidos de pro-C5 humano, Número de registro NCBI NP_001726).

```

-18  mgllgilcfl  iflgktwgqe  qtyvisapki  frvgaseniv  iqvygyteaf  datisiksyp
43   dkkfsyssgh  vhlssenkfq  nsailtiqpk  qlpggqnpvs  yvylevvskh  fskskrmpit
103  ydngflfiht  dkpvypdqqs  vkvrvyslnd  dlkpakretv  ltfidpegse  vdmveeidhi
163  giisfpdfki  psnprygmwt  ikakykedfs  ttgtayfevk  eyvlphfsvs  iepeynfigy
223  knfknfeiti  karyfynkvv  teadvyitfg  iredlkddqk  emmqtamqnt  mlingiaqvt
283  fdsetavkel  syysledlnn  kylyiavtvi  estggfseea  eipgikyvl  pyklnlvatp
343  lflkpgipyp  ikvqvksld  qlvggvpvtl  naqtidvnqe  tsdldpsksv  trvddgvasf
403  vlnlpsgvtv  lefnvktdap  dlpeenqare  gyraiayssl  sqsylyidwt  dnhkallvge
463  hlniivtpks  pyidkithyn  ylilskgkii  hfgtrekfsd  asyqsini  tqnmvpssrl
523  lvyiyvtgeq  taelvsdsvw  lniececgng  lqvhlsdad  ayspgqtvs  nmatgmdswv
583  alaavdsavy  gvqrgakkpl  ervfqfleks  dlcgaggggl  nnanvfhlag  ltfltnanad
643  dsqendepck  eilrprrtlq  kkieeiaaky  khsvvkkccy  dgacvnndet  ceqraarisl
703  gprcikafte  ccvvasqlra  nishkdmqlg  rlmktllpv  skpeirsyfp  eswlwevhlv
763  prrkqlqfal  pdslettwei  gvgisntgic  vadtvakvf  kdvflemn  ysvvrgeqiq
823  lkgtvynyrt  sgmqfcvkms  avegictses  pvidhqgts  skcvrqkveg  ssshlvtftv
883  lpleiglhni  nfsletwfgk  eilvktlrsv  pegvkresys  gvtldprgiy  gtisrrkefp
943  yripldlvpk  teikrilsvk  gllvgeilsa  vlsqeginil  thlpkgsaea  elmsvvpvfy
1003  vfhyletgnh  wnifhsdpli  ekqklkkklk  egmlsimys  nadysysvwk  ggsastwlta
1063  falrvlgqvn  kyveqngnsi  cnsllwlven  yqldngsfke  nsqyqpiklq  gtlpvearen
1123  slyltaftvi  girkafdicp  lvkidtalik  adnfllentl  paqstftlai  sayalslgdk
1183  thpqfrsivs  alkrealvkg  nppiyrfwkd  nlqhkds  ntgtarmvet  tayalltsln
1243  lkdinyvnpv  ikwlseeqry  gggfystqdt  inaiegltey  sllvkqlrls  mdidvsykhk
1303  galhnykmt  knflgrpvev  llnddlivst  gfgsglatvh  vttvvhktst  seevcsfylk
1363  idtqdieash  yrgygnsdyk  rivacasykp  sreesssgss  havmdislpt  gisaneedlk
1423  alvegvdqlf  tdyqikdghv  ilqlnsipss  dflcvrfrif  elfevgflsp  atftvyeyhr
1483  pdkqctmfys  tsnikiqkvc  egaackcvea  dcgqmqeeld  ltisaetrkq  tackpeiaya
1543  ykvsitsitv  envfvkykat  lldiyktgea  vaekdseitf  ikkvttctnae  lvkgrqylim
1603  gkealqikyn  fsfryiypld  sltwiewwpr  dtccsscqaf  lanldefaed  iflngc

```