

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 781 551**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/12** (2006.01)

**A61P 7/00** (2006.01)

**A61P 37/02** (2006.01)

**A61M 5/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.12.2016 PCT/US2016/065228**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.06.2017 WO17105939**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.12.2016 E 16823378 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.03.2020 EP 3389692**

54 Título: **Moduladores de la actividad del complemento**

30 Prioridad:

**16.12.2015 US 201562268360 P**

**03.05.2016 US 201662331320 P**

**08.06.2016 US 201662347486 P**

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

**03.09.2020**

73 Titular/es:

**RA PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)**

**87 Cambridge Park Drive**

**Cambridge, MA 02140, US**

72 Inventor/es:

**DEMARCO, STEVEN JAMES;**

**HOARTY, MICHELLE DENISE;**

**PARKER, GRACE VICTORIA;**

**RICARDO, ALONSO;**

**TOBE, SYLVIA y**

**TRECO, DOUGLAS A.**

74 Agente/Representante:

**FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás**

ES 2 781 551 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**

Moduladores de la actividad del complemento

**5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

Esta solicitud reivindica prioridad sobre la solicitud provisional estadounidense n.º 62/268.360 titulada Moduladores de la actividad del complemento presentada el 16 de diciembre de 2015; la solicitud provisional estadounidense n.º 62/331.320 titulada Moduladores de la actividad del complemento presentada el 3 de mayo de 2016; y la solicitud provisional estadounidense n.º 62/347.486 titulada Moduladores de la actividad del complemento presentada el 8 de junio de 2016.

**Lista de secuencias**

15 La presente solicitud contiene una lista de secuencias que se ha presentado electrónicamente en formato ASCII. Dicha copia ASCII, creada el 7 de diciembre de 2016, se denomina 2011\_1009PCT\_SL.txt y tiene un tamaño de 1.099 bytes.

**20 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a compuestos, incluyendo polipéptidos, que son útiles como moduladores de la actividad del complemento. También se describen métodos de utilización de estos moduladores como agentes terapéuticos.

**25 Antecedentes de la invención**

La respuesta inmunitaria de los vertebrados se compone de componentes inmunitarios adaptativos e innatos. Mientras que la respuesta inmunitaria adaptativa es selectiva para patógenos particulares y tarda en responder, los componentes de la respuesta inmunitaria innata reconocen una amplia variedad de patógenos y responden rápidamente a la infección. Un componente de este tipo de la respuesta inmunitaria innata es el sistema del complemento.

El sistema del complemento incluye aproximadamente 20 proteínas de componente del complemento circulantes, sintetizadas principalmente por el hígado. Los componentes de esta respuesta inmunitaria particular se denominaron en primer lugar "complemento" debido a la observación de que complementaban la respuesta del anticuerpo en la destrucción de bacterias. Estas proteínas permanecen en forma inactiva antes de la activación en respuesta a la infección. La activación se produce mediante una ruta de escisión proteolítica iniciada por el reconocimiento de patógenos y que conduce a la destrucción de patógenos. Se conocen tres rutas de este tipo en el sistema del complemento y se denominan ruta clásica, ruta de lectina y ruta alternativa. La ruta clásica se activa cuando una molécula de IgG o IgM se une a la superficie de un patógeno. La ruta de lectina se inicia mediante la proteína lectina de unión a manano que reconoce los residuos de azúcar de una pared de célula bacteriana. La ruta alternativa permanece activa a bajos niveles en ausencia de cualquier estímulo específico. Aunque las tres rutas difieren con respecto a eventos de iniciación, las tres rutas convergen con la escisión del componente del complemento C3. C3 se escinde en dos productos denominados C3a y C3b. De estos, C3b se une de manera covalente a la superficie del patógeno mientras que C3a actúa como señal difusible promoviendo la inflamación y reclutando células inmunitarias circulantes. C3b asociado a la superficie forma un complejo con otros componentes para iniciar una cascada de reacciones entre los últimos componentes del sistema del complemento. Debido al requisito de unión a la superficie, la actividad del complemento permanece localizada y minimiza la destrucción de células no diana.

50 C3b asociado a patógenos facilita la destrucción de patógenos de dos formas. En una ruta, se reconoce C3b directamente por células fagocíticas y conduce a la engullición del patógeno. En la segunda ruta, C3b asociado a patógenos inicia la formación del complejo de ataque de membrana (MAC). En la primera etapa, C3b se compleja con otros componentes del complemento formando el complejo C5-convertasa. Dependiendo de la activación inicial de la ruta del complemento, los componentes de este complejo pueden diferir. La C5-convertasa formada como resultado de la ruta clásica del complemento comprende C4b y C2a además de C3b. Cuando se forma por la ruta alternativa, la C5-convertasa comprende dos subunidades de C3b así como un componente Bb.

El componente del complemento C5 se escinde o bien mediante el complejo C5-convertasa en C5a y C5b. C5a, al igual que C3a, se difunde en la circulación y promueve la inflamación, actuando como factor quimiotáctico para células inflamatorias. C5b permanece unido a la superficie celular donde desencadena la formación del MAC a través de interacciones con C6, C7, C8 y C9. El MAC es un poro hidrófilo que atraviesa la membrana y promueve el flujo libre de líquido dentro y fuera de la célula, destruyéndola de ese modo.

65 Un componente importante de toda la actividad inmunitaria es la capacidad del sistema inmunitario de distinguir entre células propias y las que no lo son. La patología surge cuando el sistema inmunitario es incapaz de hacer esta distinción. En el caso del sistema del complemento, las células de vertebrados expresan proteínas que las protegen

de los efectos de la cascada del complemento. Esto garantiza que las dianas del sistema del complemento se limitan a células patógenas. Muchos trastornos y enfermedades relacionados con el complemento se asocian con destrucción anómala de células propias mediante la cascada del complemento. En un ejemplo, los sujetos que padecen hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) son incapaces de sintetizar versiones funcionales de las proteínas reguladoras del complemento CD55 y CD59 en células madre hematopoyéticas. Esto da como resultado hemólisis mediada por el complemento y una variedad de complicaciones posteriores. Otros trastornos y enfermedades relacionados con el complemento incluyen, pero no se limitan a enfermedades y trastornos autoinmunitarios; enfermedades y trastornos neurológicos; enfermedades y trastornos de la sangre; y enfermedades y trastornos infecciosos. Las pruebas experimentales sugieren que muchos trastornos relacionados con el complemento se alivian a través de la inhibición de la actividad del complemento. Por tanto, existe la necesidad de composiciones y métodos para bloquear selectivamente la destrucción celular mediada por el complemento para tratar indicaciones relacionadas. La presente invención cumple esta necesidad proporcionando composiciones y métodos relacionados.

## 15 **Sumario de la invención**

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un polipéptido inhibidor de C5 que tiene la secuencia núcleo SEQ ID NO: 1 y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable comprende cloruro de sodio a una concentración de desde 25 mM hasta 100 mM y fosfato de sodio a una concentración de desde 10 mM hasta 100 mM.

Se proporcionan aspectos adicionales de la invención en las reivindicaciones.

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que incluye R5000 y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable incluye cloruro de sodio a una concentración de desde aproximadamente 25 mM hasta aproximadamente 100 mM y fosfato de sodio a una concentración de desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 100 mM. R5000 puede estar presente a una concentración de desde aproximadamente 1 mg/ml hasta aproximadamente 400 mg/ml. La composición farmacéutica puede incluir un pH de desde aproximadamente 6,5 hasta aproximadamente 7,5. R5000 puede unirse a C5 con una constante de disociación de equilibrio ( $K_D$ ) de desde aproximadamente 0,1 nM hasta aproximadamente 1 nM. R5000 puede bloquear la producción de C5a tras la activación de la ruta alternativa de activación del complemento. R5000 puede bloquear la formación del complejo de ataque de membrana (MAC) tras la activación de la ruta clásica, ruta alternativa o ruta de lectina de activación del complemento.

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona un método de inhibición de la hemólisis en un sujeto que incluye administrar una composición farmacéutica que incluye R5000 y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable incluye cloruro de sodio a una concentración de desde aproximadamente 25 mM hasta aproximadamente 100 mM y fosfato de sodio a una concentración de desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 100 mM. La composición farmacéutica puede administrarse a una dosis suficiente para lograr niveles plasmáticos de R5000 de desde aproximadamente 0,1  $\mu$ g/ml hasta aproximadamente 20  $\mu$ g/ml. La hemólisis puede inhibirse de desde aproximadamente el 25% hasta el 100% después de la administración. La composición farmacéutica puede administrarse diariamente durante al menos dos días. La composición farmacéutica puede administrarse diariamente durante 7 días. La composición farmacéutica puede administrarse diariamente durante al menos 100 días. Según algunos métodos, no se observan efectos adversos del aparato cardiovascular, aparato respiratorio y/o sistema nervioso central (SNC) durante al menos 1 mes posterior a la administración. Según algunos métodos, no se observan cambios en la frecuencia cardíaca y/o tensión arterial durante al menos 1 mes posterior a la administración. Según algunos métodos, no se observan cambios en la frecuencia respiratoria, el volumen corriente y/o el volumen respiratorio por minuto durante al menos 1 mes posterior a la administración.

La presente divulgación proporciona un método de inhibición de la hemólisis en un sujeto que incluye administrar una composición farmacéutica que incluye R5000 y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable incluye cloruro de sodio a una concentración de desde aproximadamente 25 mM hasta aproximadamente 100 mM y fosfato de sodio a una concentración de desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 100 mM, en la que la composición farmacéutica puede administrarse por vía subcutánea (s.c.) o por vía intravenosa (i.v.). La semivida ( $t_{1/2}$ ) de niveles de R5000 en plasma del sujeto puede ser de al menos 4 horas. La  $t_{1/2}$  de niveles de R5000 en plasma del sujeto puede ser de desde aproximadamente 1 día hasta aproximadamente 10 días. El volumen en estado estacionario de distribución de R5000 en plasma del sujeto puede ser de desde aproximadamente 10 ml/kg hasta aproximadamente 200 ml/kg. El volumen en estado estacionario de distribución de R5000 en plasma del sujeto puede ser igual a al menos el 50% de volumen sanguíneo total. La tasa de aclaramiento total de R5000 en plasma del sujeto puede ser de desde aproximadamente 0,04 ml/h/kg hasta aproximadamente 4 ml/h/kg. El  $T_{m\acute{a}x}$  de R5000 en plasma del sujeto puede ser de desde aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 48 horas. La presencia de cantidades medibles de R5000 puede limitarse sustancialmente al compartimento plasmático. La composición farmacéutica puede administrarse a una dosis suficiente para administrar desde aproximadamente 0,01 mg hasta aproximadamente 2 mg de R5000 por kg de peso del sujeto. Puede inhibirse desde aproximadamente el 50% hasta aproximadamente el 99% de la activación de C5 en el sujeto.

La composición farmacéutica puede administrarse a una dosis suficiente para administrar desde aproximadamente 0,1 mg hasta aproximadamente 0,4 mg de R5000 por kg de peso del sujeto. La composición farmacéutica puede administrarse por vía subcutánea o por vía intravenosa. La composición farmacéutica puede administrarse una o más veces al día. La composición farmacéutica puede administrarse durante un periodo de 7 días. El porcentaje de inhibición de hemólisis puede ser desde al menos el 90% hasta aproximadamente el 95% o más en el plazo de 3 horas después de una primera administración. El porcentaje de inhibición de hemólisis puede ser desde al menos el 90% hasta aproximadamente el 95% o más tal como se mide al menos 7 días tras la administración. El porcentaje de inhibición de hemólisis puede ser desde al menos el 90% hasta aproximadamente el 95% o más durante al menos 4 días después de la administración. La inhibición máxima de hemólisis y/o inhibición máxima de actividad del complemento puede lograrse desde aproximadamente 2 horas después de la administración hasta aproximadamente 4 horas después de la administración.

La presente divulgación proporciona un método de inhibición de la hemólisis en un sujeto que incluye administrar una composición farmacéutica que incluye R5000 y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable incluye cloruro de sodio a una concentración de desde aproximadamente 25 mM hasta aproximadamente 100 mM y fosfato de sodio a una concentración de desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 100 mM, en la que R5000 se administra a una dosis de 0,2 mg/kg. La hemólisis puede ser  $\leq$  3% a las 24 horas después de la última administración. La actividad del complemento puede reducirse desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 10% durante el periodo de 7 días. La actividad del complemento puede ser  $\leq$  5% a las 24 horas después de la última administración. La composición farmacéutica puede administrarse diariamente mediante inyección subcutánea o intravenosa a una dosis suficiente para administrar desde aproximadamente 0,1 mg/día hasta aproximadamente 60 mg/día de R5000 por kg de peso del sujeto. La concentración sérica máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ) lograda puede ser de desde aproximadamente 0,1  $\mu$ g/ml hasta aproximadamente 1000  $\mu$ g/ml. El área bajo la curva (AUC) puede ser de desde aproximadamente 200  $\mu$ g·h/ml hasta aproximadamente 10,000  $\mu$ g·h/ml.

La presente divulgación proporciona un método de tratamiento de hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) en un sujeto que lo necesita que incluye la administración subcutánea o intravenosa de una composición farmacéutica que incluye R5000 y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable incluye cloruro de sodio a una concentración de desde aproximadamente 25 mM hasta aproximadamente 100 mM y fosfato de sodio a una concentración de desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 100 mM. El sujeto puede haberse tratado previamente con un agente terapéutico basado en anticuerpo. La HPN en el sujeto puede ser resistente o no responder al tratamiento con un agente terapéutico basado en anticuerpo. El agente terapéutico basado en anticuerpo puede ser eculizumab.

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona un kit que incluye una composición farmacéutica que incluye R5000 y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable incluye cloruro de sodio a una concentración de desde aproximadamente 25 mM hasta aproximadamente 100 mM y fosfato de sodio a una concentración de desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 100 mM.

En algunos casos, la presente divulgación proporciona un dispositivo autoinyector que incluye un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable incluye cloruro de sodio a una concentración de desde aproximadamente 25 mM hasta aproximadamente 100 mM y fosfato de sodio a una concentración de desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 100 mM

### Breve descripción de las figuras

La figura 1 es un diagrama de dispersión que muestra la inhibición de R5000 de la producción de C5a.

La figura 2 es un diagrama de dispersión que muestra la inhibición de R5000 de la formación de complejo de ataque de membrana.

La figura 3 es un diagrama de dispersión que muestra la actividad inhibidora de R5000 en un modelo de macaco cangrejero.

La figura 4A es un diagrama de dispersión que muestra la correlación farmacocinética y farmacodinámica de R5000 en macacos cangrejeros macho tras múltiples administraciones subcutáneas a 0,21 mg/kg.

La figura 4B es un diagrama de dispersión que muestra la correlación farmacocinética y farmacodinámica de R5000 en macacos cangrejeros macho tras múltiples administraciones subcutáneas a 4,2 mg/kg.

La figura 5A es un gráfico que muestra niveles de R5000 a lo largo del tiempo después de la administración subcutánea en rata y mono.

La figura 5B es un gráfico que muestra las concentraciones plasmáticas a lo largo del tiempo después de la administración de múltiples dosis subcutáneas a 0,21 y 4,2 mg/kg en monos.

La figura 6 es un gráfico que muestra las concentraciones plasmáticas de R5000 predichas en humanos con dosificación diaria de R5000.

5 La figura 7 es un gráfico lineal que muestra las concentraciones de R5000 en macaco cangrejero después de una primera dosis en un estudio de toxicología con dosis repetidas.

La figura 8 es un gráfico lineal que muestra las concentraciones de R5000 en macaco cangrejero después de la última dosis en un estudio de toxicología con dosis repetidas.

10 La figura 9A es un gráfico que muestra los cambios en el porcentaje de hemólisis en relación con la concentración de R5000 en un estudio humano de múltiples dosis.

15 La figura 9B es un gráfico que muestra las concentraciones plasmáticas de R5000 a lo largo del tiempo en un estudio humano de múltiples dosis.

La figura 10A es un gráfico que muestra los cambios en la actividad del complemento a lo largo del tiempo con tratamiento con R5000 en un estudio humano de múltiples dosis.

20 La figura 10B es un gráfico que muestra los cambios en la actividad del complemento a lo largo de un periodo prolongado con tratamiento con R5000 en un estudio humano de múltiples dosis.

La figura 11A es un gráfico que muestra los niveles de concentración plasmática máximos dependientes de la dosis de R5000 en un estudio clínico de dosis ascendente individual en humanos. La figura 11B es un gráfico que muestra las concentraciones plasmáticas a lo largo del tiempo después de una dosis individual de R5000.

25 La figura 12A es un gráfico que muestra el porcentaje de hemólisis a lo largo del tiempo después de una dosis individual de R5000 durante la duración de 4 días en humanos.

30 La figura 12B es un gráfico que muestra el porcentaje de CH<sub>50</sub> a lo largo del tiempo después de una dosis individual de R5000 en humanos.

La figura 12C es un gráfico que muestra el porcentaje de hemólisis con diversas dosis a lo largo de la duración de 28 días en humanos.

35 La figura 13 es un gráfico que muestra el porcentaje de actividad del complemento a lo largo del tiempo después de una administración de dosis individual de R5000 en humanos.

#### 40 Descripción detallada

##### I. Compuestos y composiciones

Según la presente divulgación, se proporcionan compuestos y composiciones que actúan para modular la actividad del complemento. Tales compuestos y composiciones de la divulgación pueden incluir inhibidores que bloquean la activación del complemento. Tal como se usa en el presente documento, "actividad del complemento" incluye la activación de la cascada del complemento, la formación de productos de escisión a partir de un componente del complemento tal como C3 o C5, el ensamblaje de complejos posteriores tras un acontecimiento de escisión, o cualquier proceso o acontecimiento que atienda a, o que resulta de la escisión de un componente del complemento, por ejemplo, C3 o C5. Los inhibidores del complemento pueden incluir inhibidores de C5 que bloquean la activación del complemento al nivel del componente del complemento C5. Los inhibidores de C5 pueden unirse a C5 y evitar su escisión, mediante C5 convertasa, en los productos de escisión C5a y C5b. Tal como se usa en el presente documento, "componente del complemento C5" o "C5" se define como un complejo que se escinde mediante C5 convertasa en al menos los productos de escisión, C5a y C5b. "Inhibidores de C5", según la divulgación, comprenden cualquier compuesto o composición que inhibe al procesamiento o escisión del componente escindido previamente del complejo de complemento C5 o los productos de escisión del componente del complemento C5.

Se entiende que la inhibición de la escisión de C5 evita el ensamblaje y la actividad del complejo citolítico de ataque de membrana (MAC) en glóbulos rojos deficientes en proteína adherente glicosilfosfatidilinositol (GPI). Como tal, en algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación también pueden unirse a C5b, evitando la unión a C6 y posterior ensamblaje del MAC de C5b-9.

##### *Compuestos basados en péptidos*

65 En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación son polipéptidos. Según la presente divulgación, cualquier molécula basada en aminoácidos (natural o no natural) puede denominarse "polipéptido" y este término abarca "péptidos", "peptidomiméticos" y "proteínas". Tradicionalmente, se considera que los "péptidos" oscilan en tamaño

desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 50 aminoácidos. Los polipéptidos mayores de aproximadamente 50 aminoácidos se denominan generalmente "proteínas".

Los polipéptidos inhibidores de C5 pueden ser lineales o cíclicos. Los polipéptidos cíclicos incluyen cualquier polipéptido que tenga como parte de su estructura una o más características cíclicas tales como un bucle y/o una unión interna. En algunos casos, se forman polipéptidos cíclicos cuando una molécula actúa como resto de unión en puente para unir dos o más regiones del polipéptido. Tal como se usa en el presente documento, el término "resto de unión en puente" se refiere a uno o más componentes de un puente formado entre dos aminoácidos adyacentes o no adyacentes, aminoácidos no naturales o no aminoácidos en un polipéptido. Los restos de unión en puente pueden ser de cualquier tamaño o composición. En algunos casos, los restos de unión en puente pueden comprender uno o más enlaces químicos entre dos aminoácidos adyacentes o no adyacentes, aminoácidos no naturales, residuos no de aminoácido o combinaciones de los mismos. En algunos casos, tales enlaces químicos pueden estar entre uno o más grupos funcionales en aminoácidos adyacentes o no adyacentes, aminoácidos no naturales, residuos no de aminoácido o combinaciones de los mismos. Los restos de unión en puente pueden incluir uno o más de un enlace amida (lactama), enlace disulfuro, enlace tioéter, anillo aromático, anillo de triazol y cadena hidrocarbonada. En algunos casos, los restos de unión en puente incluyen un enlace amida entre una funcionalidad amina y una funcionalidad carboxilato, cada uno presente en un aminoácido, aminoácido no natural o cadena lateral de residuo de no aminoácido. En algunos casos, las funcionalidades amina o carboxilato forman parte de un residuo no de aminoácido o residuo de aminoácido no natural.

Los polipéptidos inhibidores de C5 pueden ciclarse a través del extremo terminal carboxilo, el extremo terminal amino o a través de cualquier otro punto conveniente de unión, tal como, por ejemplo, a través del azufre de una cisteína (por ejemplo, a través de la formación de enlaces disulfuro entre dos residuos de cisteína en una secuencia) o cualquier cadena lateral de un residuo de aminoácido. Las uniones adicionales que forman bucles cíclicos pueden incluir, pero no se limitan a, uniones maleimida, uniones amida, uniones éster, uniones éter, uniones tiol éter, uniones hidrazona o uniones acetamida.

En algunos casos, se forman polipéptidos inhibidores de C5 cíclicos de la divulgación usando un resto lactama. Tales polipéptidos cíclicos pueden formarse, por ejemplo, mediante síntesis en una resina Wang de soporte sólido usando química Fmoc convencional. En algunos casos, Fmoc-ASP(alil)-OH y Fmoc-LYS(aloc)-OH se incorporan en polipéptidos para servir como monómeros precursores para formación de puentes de lactama.

Los polipéptidos inhibidores de C5 de la divulgación pueden ser peptidomiméticos. Un "peptidomimético" o "mimético polipeptídico" es un polipéptido en el que la molécula contiene elementos estructurales que no se encuentran en polipéptidos naturales (es decir, polipéptidos que se componen de sólo los 20 aminoácidos proteinogénicos). En algunos casos, los peptidomiméticos son capaces de recapitular o imitar la(s) acción(es) biológica(s) de un péptido natural. Un peptidomimético puede diferir en muchas formas de los polipéptidos naturales, por ejemplo, a través de cambios en la estructura principal o a través de la presencia de aminoácidos que no se producen en la naturaleza. En algunos casos, los peptidomiméticos pueden incluir aminoácidos con cadenas laterales que no se encuentran entre los 20 aminoácidos proteinogénicos conocidos; restos de unión en puente no basados en polipéptidos usados para efectuar la ciclación entre los extremos o porciones internas de la molécula; sustituciones del resto de hidrógeno del enlace amida mediante grupos metilo (N-metilación) u otros grupos alquilo; reemplazo de un enlace peptídico con un enlace o grupo químico que es resistente a tratamientos químicos o enzimáticos; modificaciones N- y C-terminales; y/o conjugación con una extensión no peptídica (tal como polietilenglicol, lípidos, hidratos de carbono, nucleósidos, nucleótidos, bases de nucleósidos, diversas moléculas pequeñas, o grupos fosfato o sulfato).

Tal como se usa en el presente documento, el término "aminoácido" incluye los residuos de los aminoácidos naturales así como los aminoácidos no naturales. Los 20 aminoácidos proteinogénicos naturales se identifican y se denominan en el presente documento o bien por designaciones de una letra o bien de tres letras tal como sigue: ácido aspártico (Asp:D), isoleucina (Ile:I), treonina (Thr:T), leucina (Leu:L), serina (Ser:S), tirosina (Tyr:Y), ácido glutámico (Glu:E), fenilalanina (Phe:F), prolina (Pro:P), histidina (His:H), glicina (Gly:G), lisina (Lys:K), alanina (Ala:A), arginina (Arg:R), cisteína (Cys:C), triptófano (Trp:W), valina (Val:V), glutamina (Gln:Q) metionina (Met:M), asparagina (Asn:N). Los aminoácidos que se producen de manera natural existen en sus formas estereoisoméricas levorrotatorias (L). Los aminoácidos a los que se hace referencia en el presente documento son L-estereoisómeros excepto cuando se indique lo contrario. El término "aminoácido" también incluye aminoácidos que portan un grupo protector amino convencional (por ejemplo, acetilo o benciloxicarbonilo), así como aminoácidos naturales y no naturales protegidos en el extremo terminal carboxilo (por ejemplo, como éster bencilico, fenílico o alquílico (C1-C6), o amida; o como alfa-metilbencilamida). Otros grupos protectores amino y carboxilo adecuados los conocen los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Greene, T. W.; Wutz, P. G. M., *Protecting Groups In Organic Synthesis*; segunda edición, 1991, Nueva York, John Wiley & sons, Inc., y documentos citados en el mismo). Los polipéptidos y/o las composiciones de polipéptido de la presente divulgación también pueden incluir aminoácidos modificados.

Los aminoácidos "no naturales" tienen cadenas laterales u otras características no presentes en los 20 aminoácidos que se producen de manera natural enumerados anteriormente e incluyen, pero no se limitan a: N-metilaminoácidos, N-alquilaminoácidos, alfa, alfa aminoácidos sustituidos, beta-aminoácidos, alfa-hidroxilo aminoácidos, D-

aminoácidos, y otros aminoácidos no naturales conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Josephson *et al.*, (2005) J. Am. Chem. Soc. 127: 11727-11735; Forster, A.C. *et al.* (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100: 6353-6357; Subtelny *et al.*, (2008) J. Am. Chem. Soc. 130: 6131-6136; Hartman, M.C.T. *et al.* (2007) PLoS ONE 2:e972; y Hartman *et al.*, (2006) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4356-4361). Los aminoácidos no naturales adicionales útiles para la optimización de polipéptidos y/o composiciones de polipéptido de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-1-carboxílico, ácido 1-amino-2,3-hidro-1H-indene-1-carboxílico, homolisina, homoarginina, homoserina, ácido 2-aminoadípico, ácido 3-aminoadípico, beta-alanina, ácido aminopropiónico, ácido 2-aminobutírico, ácido 4-aminobutírico, ácido 5-aminopentanoico, ácido 5-aminohexanoico, ácido 6-aminocaproico, ácido 2-aminoheptanoico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 3-aminoisobutírico, ácido 2-aminopimélico, desmosina, ácido 2,3-diaminopropiónico, N-etilglicina, N-etilasparagina, homoprolina, hidroxilisina, allo-hidroxilisina, 3-hidroxi prolina, 4-hidroxi prolina, isodesmosina, alo-isoleucina, N-metilpentilglicina, naftilalanina, ornitina, pentilglicina, tioprolina, norvalina, terc-butilglicina, fenilglicina, azatriptófano, 5-azatriptófano, 7-azatriptófano, 4-fluorofenilalanina, penicillamina, sarcosina, homocisteína, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico, ácido 1-aminociclobutanocarboxílico, ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, ácido 4-aminotetrahidro-2H-pirán-4-carboxílico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-tetrazol-5-il)propanoico, ciclopentilglicina, ciclohexilglicina, ciclopropilglicina,  $\eta$ - $\omega$ -metil-arginina, 4-clorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, 5-fluorotriptófano, 5-clorotriptófano, citrulina, 4-cloro-homofenilalanina, homofenilalanina, 4-aminometil-fenilalanina, 3-aminometil-fenilalanina, octilglicina, norleucina, ácido tranexámico, ácido 2-aminopentanoico, ácido 2-aminohexanoico, ácido 2-aminoheptanoico, ácido 2-aminooctanoico, ácido 2-aminononanoico, ácido 2-aminodecanoico, ácido 2-aminoundecanoico, ácido 2-aminododecanoico, ácido aminovalérico y ácido 2-(2-aminoetoxi)acético, ácido piperacético, 2-carboxilazetidina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico, 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina, 5-nuoroisoleucina, 4-metilfenilglicina, 4-etilfenilglicina, 4-isopropil-fenilglicina, ácido (S)-2-amino-5-azidopentanoico (también denominado en el presente documento "X02"), ácido (S)-2-aminohept-6-enoico (también denominado en el presente documento "X30"), ácido (S)-2-aminopent-4-enoico (también denominado en el presente documento "X31"), ácido (S)-2-aminopent-4-enoico (también denominado en el presente documento "X12"), ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-4-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, (S)-leucinol, (S)-valinol, (S)-terc-leucinol, (R)-3-metilbutan-2-amina, (S)-2-metil-1-fenilpropan-1-amina y (S)-N,2-dimetil-1-(piridin-2-il)propan-1-amina, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico y ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)butanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)butanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)butanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)butanoico, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)butanoico y ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)butanoico, ácido 2-(2'MeOfenil)-2-aminoacético, ácido tetrahidro 3-isoquinolincarboxílico y estereoisómeros de los mismos (incluyendo, pero sin limitarse, a los isómeros D y L).

Los aminoácidos no naturales adicionales que son útiles en la optimización de polipéptidos o composiciones de polipéptido de la divulgación incluyen, pero no se limitan a, aminoácidos fluorados en los que uno o más átomos de hidrógeno unidos a carbono se reemplazan por flúor. El número de átomos de flúor incluidos puede oscilar desde 1 hasta e incluyendo todos los átomos de hidrógeno. Los ejemplos de tales aminoácidos incluyen, pero no se limitan a, 3-fluoroprolina, 3,3-difluoroprolina, 4-fluoroprolina, 4,4-difluoroprolina, 3,4-difluoroprolina, 3,3,4,4-tetrafluoroprolina, 4-fluorotriptófano, 5-fluorotriptófano, 6-fluorotriptófano, 7-fluorotriptófano, y estereoisómeros de los mismos.

Los aminoácidos no naturales adicionales que son útiles en la optimización de polipéptidos de la divulgación incluyen, pero no se limitan a, aquellos que están disustituidos en el carbono  $\alpha$ . Estos incluyen aminoácidos en los que los dos sustituyentes en el carbono  $\alpha$  son iguales, por ejemplo, ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico y ácido 2-amino-2-etilbutanoico, así como aquellos en los que los sustituyentes son diferentes, por ejemplo,  $\alpha$ -metilfenilglicina y  $\alpha$ -metilprolina. Además, los sustituyentes en el carbono  $\alpha$  pueden tomarse juntos para formar un anillo, por ejemplo, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico, ácido 1-aminociclobutanocarboxílico, ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, ácido 3-aminotetrahidrofuran-3-carboxílico, ácido 3-aminotetrahidropirán-3-carboxílico, ácido 4-aminotetrahidropirán-4-carboxílico, ácido 3-aminopirrolidin-3-carboxílico, ácido 3-aminopiperidin-3-carboxílico, ácido 4-aminopiperidin-4-carboxílico, y estereoisómeros de los mismos.

Los aminoácidos no naturales adicionales que son útiles en la optimización de polipéptidos o composiciones de polipéptido de la divulgación incluyen, pero no se limitan a, análogos de triptófano en los que el sistema de anillo de indol se reemplaza por otro sistema de anillo bicíclico de 9 ó 10 miembros que comprende 0, 1, 2, 3 ó 4 heteroátomos independientemente seleccionados de N, O S. Cada sistema de anillo puede ser saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado. El sistema de anillo puede sustituirse por 0, 1, 2, 3 ó 4 sustituyentes en cualquier átomo sustituible. Cada sustituyente puede seleccionarse independientemente de H, F, Cl, Br, CN, COOR, CONRR', oxo, OR, NRR'. Cada R y R' puede seleccionarse independientemente de H, alquilo C1-C20, o alquilo C1-C20-O-alquilo C1-20.

En algunos casos, los análogos de triptófano pueden ser útiles en la optimización de polipéptidos o composiciones de polipéptido de la divulgación. Los análogos de triptófano pueden incluir, pero no se limitan a 5-fluorotriptófano [(5-

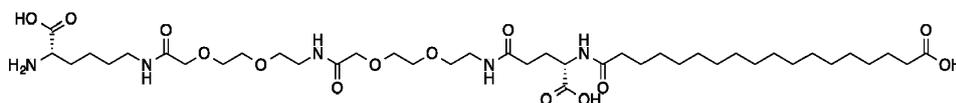
F)W], 5-metil-O-triptófano [(5-MeO)W], 1-metiltriptófano [(1-Me-W) o (1-Me)W], D-triptófano (D-Trp), azatriptófano (incluyendo, pero no limitado a 4-azatriptófano, 7-azatriptófano y 5-azatriptófano,) 5-clorotriptófano, 4-fluorotriptófano, 6-fluorotriptófano, 7-fluorotriptófano, y estereoisómeros de los mismos. Excepto cuando se indique lo contrario, el término “azatriptófano” y su abreviatura, “azaTrp”, tal como se usan en el presente documento, se refieren a 7-azatriptófano.

Los residuos de aminoácido modificados útiles para la optimización de polipéptidos y/o composiciones de polipéptido de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a aquellos que están químicamente bloqueados (de manera reversible o irreversible); químicamente modificados en su grupo amino N-terminal o sus grupos de cadena lateral; químicamente modificados en la estructura principal de amida, como por ejemplo, N-metilados, estereoisómeros D (aminoácidos no naturales) y L (aminoácidos naturales); o residuos en los que los grupos funcionales de cadena lateral están químicamente modificados con otro grupo funcional. En algunos casos, los aminoácidos modificados incluyen sin limitación, sulfóxido de metionina; sulfona de metionina; ácido aspártico-(beta-éster metílico), un aminoácido modificado de ácido aspártico; N-etilglicina, un aminoácido modificado de glicina; carboxamida de alanina; y/o un aminoácido modificado de alanina. Los aminoácidos no naturales pueden adquirirse de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), Bachem (Torrance, CA) u otros proveedores. Los aminoácidos no naturales pueden incluir además cualquiera de los enumerados en la tabla 2 de la publicación de patente estadounidense US 2011/0172126.

La presente divulgación contempla variantes y derivados de polipéptidos presentados en el presente documento. Estos incluyen variantes y derivados de sustitución, inserción, delección y covalentes. Tal como se usa en el presente documento, el término “derivado” se usa como sinónimo con el término “variante” y se refiere a una molécula que se ha modificado o cambiado de cualquiera modo en relación con una molécula de referencia o molécula de partida.

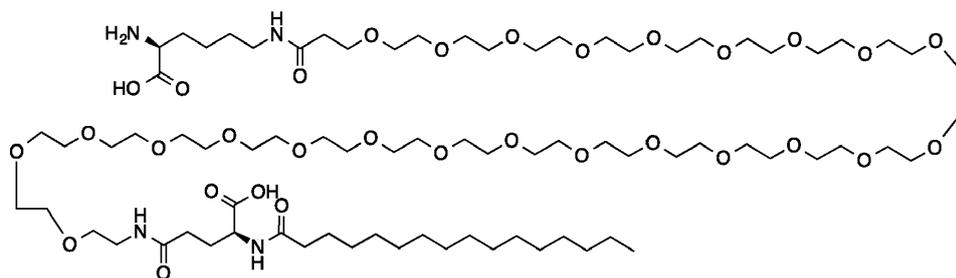
Los polipéptidos de la divulgación pueden incluir cualquiera de los siguientes componentes, características o restos, para los que las abreviaturas usadas en el presente documento incluyen: “Ac” y “NH<sub>2</sub>” indican acetilo y extremos amidados, respectivamente; “Nvl” representa norvalina; “Phg” representa fenilglicina; “Tbg” representa terc-butilglicina; “Chg” representa ciclohexilglicina; “(N-Me)X” representa la forma N-metilada del aminoácido indicado por el código de aminoácido de una letra o tres letras en lugar de la variable “X” escrita como N-metil-X [por ejemplo (N-Me)D o (N-Me)Asp representan la forma N-metilada de ácido aspártico o ácido N-metil-aspartico]; “azaTrp” representa azatriptófano; “(4-F)Phe” representa 4-fluorofenilalanina; “Tyr(OMe)” representa O-metiltirosina, “Aib” representa ácido aminoisobutírico; “(homo)F” o “(homo)Phe” representa homofenilalanina; “(2-OMe)Phg” se refiere a 2-O-metilfenilglicina; “(5-F)W” se refiere a 5-fluorotriptófano; “D-X” se refiere al estereoisómero D del aminoácido dado “X” [por ejemplo (D-Chg) representa D-ciclohexilglicina]; “(5-MeO)W” se refiere a 5-metil-O-triptófano; “homoC” se refiere a homocisteína; “(1-Me-W)” o “(1-Me)W” se refiere a 1-metiltriptófano; “Nle” se refiere a norleucina; “Tiq” se refiere a un residuo de tetrahydroisoquinolina; “Asp(T)” se refiere a ácido (S)-2-amino-3-(1H-tetrazol-5-il)propanoico; “(3-Cl-Phe)” se refiere a 3-clorofenilalanina; “[N-Me-4-F)Phe]” o “(N-Me-4-F)Phe” se refiere a N-metil-4-fluorofenilalanina; “(m-Cl-homo)Phe” se refiere a meta-cloro homofenilalanina; “(des-amino)C” se refiere a ácido 3-tiopropiónico; “(alfa-metil)D” se refiere a ácido alfa-metil-L-aspartico; “2NaI” se refiere a 2-naftilalanina; “(3-aminometil)Phe” se refiere a 3-aminometil-L-fenilalanina; “Cle” se refiere a cicloleucina; “Ac-Piran” se refiere a ácido 4-amino-tetrahydro-piran-4-carboxílico; “(Lys-C16)” se refiere a N-ε-palmitoil-lisina; “(Lys-C12)” se refiere a N-ε-lauril-lisina; “(Lys-C10)” se refiere a N-ε-capril-lisina; “(Lys-C8)” se refiere a N-ε-lisina caprítica; “[xXilil(y, z)]” se refiere al resto de unión en puente de xililo entre dos aminoácidos que contienen tiol en donde x puede ser m, p u o para indicar el uso de meta, para u orto-dibromoxilenos (respectivamente) para generar restos de unión en puente y los identificadores numéricos, y y z, colocan la posición del aminoácido dentro del polipéptido de los aminoácidos que participan en la ciclación; “[ciclo(y,z)]” se refiere a la formación de un enlace entre dos residuos de aminoácido en donde los identificadores numéricos, y y z, colocan la posición de los residuos que participan en el enlace; “[ciclo-olefinil(y,z)]” se refiere a la formación de un enlace entre dos residuos de aminoácido mediante metátesis de olefina en donde los identificadores numéricos, y y z, colocan la posición de los residuos que participan en el enlace; “[ciclo-tioalquil(y,z)]” se refiere a la formación de un enlace tioéter entre dos residuos de aminoácido en donde que los identificadores numéricos, y y z, colocan la posición de los residuos que participan en el enlace; “[ciclo-triazolil(y,z)]” se refiere a la formación de un anillo de triazol entre dos residuos de aminoácido en donde los identificadores numéricos, y y z, colocan la posición de los residuos que participan en el enlace. “B20” se refiere a N-ε-(PEG2-γ-ácido glutámico-N-α-ácido octadecanodioico)lisina [también conocida como ácido (1S,28S)-1-amino-7,16,25,30-tetraoxo-9,12,18,21-tetraoxa-6,15,24,29-tetraazahexatetracontane-1,28,46-tricarboxílico.]

#### B20



“B28” se refiere a N-ε-(PEG24-γ-ácido glutámico-N-α-hexadecanoil)lisina.

#### B28



5 “K14” se refiere a N-ε-1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-iliden)-3-metilbutil-L-lisina. Todos los demás símbolos se refieren al código de aminoácidos de una letra convencional.

10 Algunos polipéptidos inhibidores de C5 comprenden desde aproximadamente 5 aminoácidos hasta aproximadamente 10 aminoácidos, desde aproximadamente 6 aminoácidos hasta aproximadamente 12 aminoácidos, desde aproximadamente 7 aminoácidos hasta aproximadamente 14 aminoácidos, desde aproximadamente 8 aminoácidos hasta aproximadamente 16 aminoácidos, desde aproximadamente 10 aminoácidos hasta aproximadamente 18 aminoácidos, desde aproximadamente 12 aminoácidos hasta aproximadamente 24 aminoácidos, o desde aproximadamente 15 aminoácidos hasta aproximadamente 30 aminoácidos. En algunos casos, los polipéptidos inhibidores de C5 comprenden al menos 30 aminoácidos.

15 Algunos inhibidores de C5 de la divulgación incluyen un resto lipídico C-terminal. Tales restos lipídicos pueden incluir grupos acilo grasos (por ejemplo, grupos acilo grasos saturados o insaturados). En algunos casos, el grupo acilo graso puede ser un grupo palmitoilo.

20 Los inhibidores de C5 que tienen grupos acilo grasos pueden incluir uno o más grupos de unión moleculares que unen los ácidos grasos al péptido. Tales grupos de unión moleculares pueden incluir residuos de aminoácido. En algunos casos, pueden usarse residuos de ácido L-γ-glutámico como grupos de unión moleculares. En algunos casos, los grupos de unión moleculares pueden incluir uno o más grupos de unión de polietilenglicol (PEG). Los grupos de unión de PEG de la divulgación pueden incluir desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 5, desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 10, desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 20, desde aproximadamente 6 hasta aproximadamente 24, desde aproximadamente 8 hasta aproximadamente 32, o al menos 32 unidades de PEG.

30 Los inhibidores de C5 de la divulgación pueden tener pesos moleculares de desde aproximadamente 200 g/mol hasta aproximadamente 600 g/mol, desde aproximadamente 500 g/mol hasta aproximadamente 2000 g/mol, desde aproximadamente 1000 g/mol hasta aproximadamente 5000 g/mol, desde aproximadamente 3000 g/mol hasta aproximadamente 4000 g/mol, desde aproximadamente 2500 g/mol hasta aproximadamente 7500 g/mol, desde aproximadamente 5000 g/mol hasta aproximadamente 10000 g/mol, o al menos 10000 g/mol.

35 Los polipéptidos inhibidores de C5 incluyen R5000. La secuencia núcleo de aminoácidos de R5000 (SEQ ID NO: 1) comprende 15 aminoácidos (todos aminoácidos L), incluyendo 4 aminoácidos no naturales (ácido N-metil-aspartico, terc-butilglicina, 7-azatriptófano y ciclohexilglicina); un puente de lactama entre K1 y D6 de la secuencia de polipéptido; y una lisina C-terminal reside con una cadena lateral modificada, formando un residuo de N-ε-(PEG24-γ-ácido glutámico-N-α-hexadecanoil)lisina (también denominado en el presente documento “B28”). La modificación de la cadena lateral de lisina C-terminal incluye un espaciador de polietilenglicol (PEG) (PEG24), estando PEG24 unido a un residuo de ácido L-γ-glutámico que se derivatiza con un grupo palmitoilo.

45 En algunos casos, la presente divulgación incluye variantes de R5000. En algunas variantes de R5000, el resto de la cadena lateral de lisina C-terminal puede alterarse. En algunos casos, el espaciador de PEG24 (que tiene 24 subunidades de PEG) del resto de la cadena lateral de lisina C-terminal puede incluir menos subunidades de PEG o adicionales. En otros casos, el grupo palmitoilo del resto de la cadena lateral de lisina C-terminal puede sustituirse con otro ácido graso saturado o insaturado. En casos adicionales, el grupo de unión de ácido L-γ-glutámico del resto de la cadena lateral de lisina C-terminal (entre PEG y grupos acilo) puede sustituirse con un grupo de unión de no aminoácido o aminoácido alternativo.

50 En algunos casos, las variantes de R5000 pueden incluir modificaciones de la secuencia núcleo de polipéptido en R5000 que pueden usarse en combinación con una o más de las características del resto de la cadena lateral de lisina C-terminal o cíclica de R5000. Tales variantes pueden tener una identidad de secuencia de al menos el 50%, al menos el 55%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90% o al menos el 95% con respecto a la secuencia núcleo de polipéptido de SEQ ID NO: 1. En algunos casos, las variantes de R5000 pueden ciclarse formando puentes de lactama entre aminoácidos distintos de los usados en R5000.

Los inhibidores de C5 de la divulgación pueden desarrollarse o modificarse para lograr características de unión específicas. La unión de los inhibidores puede evaluarse determinando las velocidades asociación y/o disociación con una diana particular. En algunos casos, los compuestos demuestran una fuerte y rápida asociación con una diana en combinación con una velocidad de disociación lenta. En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación demuestran una fuerte y rápida asociación con C5. Tales inhibidores pueden demostrar además velocidades de disociación lentas con C5.

Los inhibidores de C5 de la divulgación que se unen a la proteína del complemento C5, pueden unirse a la proteína del complemento C5 con una constante de disociación de equilibrio ( $K_D$ ) de desde aproximadamente 0,001 nM hasta aproximadamente 0,01 nM, desde aproximadamente 0,005 nM hasta aproximadamente 0,05 nM, desde aproximadamente 0,01 nM hasta aproximadamente 0,1 nM, desde aproximadamente 0,05 nM hasta aproximadamente 0,5 nM, desde aproximadamente 0,1 nM hasta aproximadamente 1,0 nM, desde aproximadamente 0,5 nM hasta aproximadamente 5,0 nM, desde aproximadamente 2 nM hasta aproximadamente 10 nM, desde aproximadamente 8 nM hasta aproximadamente 20 nM, desde aproximadamente 15 nM hasta aproximadamente 45 nM, desde aproximadamente 30 nM hasta aproximadamente 60 nM, desde aproximadamente 40 nM hasta aproximadamente 80 nM, desde aproximadamente 50 nM hasta aproximadamente 100 nM, desde aproximadamente 75 nM hasta aproximadamente 150 nM, desde aproximadamente 100 nM hasta aproximadamente 500 nM, desde aproximadamente 200 nM hasta aproximadamente 800 nM, desde aproximadamente 400 nM hasta aproximadamente 1.000 nM, o al menos 1.000 nM.

En algunos casos, los inhibidores de C5 de la invención bloquean la formación o generación de C5a de C5. En algunos casos, la formación o generación de C5a se bloquea tras la activación de la ruta alternativa de activación del complemento. En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación bloquean la formación del complejo de ataque de membrana (MAC). Tal inhibición de formación de MAC puede deberse a la unión de los inhibidores de C5 a las subunidades C5b. La unión de los inhibidores de C5 a subunidades C5b puede evitar la unión de C6, dando como resultado el bloqueo de la formación de MAC. En algunos casos, esta inhibición de formación de MAC se produce después de la activación de las rutas clásicas, alternativas o de lectina.

Los inhibidores de C5 de la divulgación pueden sintetizarse usando procedimientos químicos. En algunos casos, tal síntesis elimina el riesgo asociado con la fabricación de productos biológicos en líneas celulares de mamífero. En algunos casos, la síntesis química puede ser más simple y más económica que los procedimientos de producción biológicos.

#### *Variaciones isotópicas*

Los polipéptidos de la presente divulgación pueden comprender uno o más átomos que son isótopos. Tal como se usa en el presente documento, el término "isótopo" se refiere a un elemento químico que tiene uno o más neutrones adicionales. Los polipéptidos de la presente divulgación pueden estar deuterados. Tal como se usa en el presente documento, el término "deuterado" se refiere a una sustancia que ha tenido uno o más átomos de hidrógeno reemplazados por isótopos de deuterio. Los isótopos de deuterio son isótopos de hidrógeno. El núcleo de hidrógeno contiene un protón mientras que los núcleos de deuterio contienen tanto un protón como un neutrón. Los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden deuterarse con el fin de cambiar una propiedad física, tal como estabilidad, o para permitir su uso en aplicaciones de diagnóstico y experimentales.

#### II. Métodos de uso

Se proporcionan en el presente documento métodos de modulación de la actividad del complemento usando compuestos y/o composiciones de la divulgación.

#### *Indicaciones terapéuticas*

Un componente importante de toda la actividad inmunitaria (innata y adaptativa) es la capacidad del sistema inmunitario para distinguir entre células propias y no propias. La patología surge cuando el sistema inmunitario es incapaz de hacer esta distinción. En el caso del sistema del complemento, las células de vertebrados expresan proteínas inhibitoras que las protegen de los efectos de la cascada del complemento y esto garantiza que el sistema del complemento se dirige contra patógenos microbianos. Muchos trastornos y enfermedades relacionados con el complemento se asocian con destrucción anómala de células propias mediante la cascada del complemento.

Los métodos de la divulgación incluyen métodos de tratamiento de trastornos relacionados con el complemento con compuestos y composiciones de la divulgación. Un "trastorno relacionado con el complemento", tal como se hace referencia en el presente documento, puede incluir cualquier estado relacionado con la disfunción del sistema del complemento, por ejemplo, escisión o procesamiento de un componente del complemento tal como C5.

En algunos casos, los métodos de la divulgación incluyen métodos de inhibición de la actividad del complemento en un sujeto. En algunos casos, el porcentaje de actividad del complemento inhibido en un sujeto puede ser de al menos el 10%, al menos el 20%, al menos el 30%, al menos el 40%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el

70%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, al menos el 99,5% o al menos el 99,9%. En algunos casos, este nivel de inhibición y/o inhibición máxima de actividad del complemento puede lograrse en desde aproximadamente 1 hora después de una administración hasta aproximadamente 3 horas después de una administración, desde aproximadamente 2 horas después de una administración hasta aproximadamente 4 horas después de una administración, desde aproximadamente 3 horas después de una administración hasta aproximadamente 10 horas después de una administración, desde aproximadamente 5 horas después de una administración hasta aproximadamente 20 horas después de una administración o desde aproximadamente 12 horas después de una administración hasta aproximadamente 24 horas después de una administración. La inhibición de la actividad del complemento puede continuar durante todo un periodo de al menos 1 día, de al menos 2 días, de al menos 3 días, de al menos 4 días, de al menos 5 días, de al menos 6 días, de al menos 7 días, de al menos 2 semanas, de al menos 3 semanas o de al menos 4 semanas. En algunos casos, este nivel de inhibición puede lograrse a través de administración diaria. Tal administración diaria puede incluir administración durante al menos 2 días, durante al menos 3 días, durante al menos 4 días, durante al menos 5 días, durante al menos 6 días, durante al menos 7 días, durante al menos 2 semanas, durante al menos 3 semanas, durante al menos 4 meses, durante al menos 6 meses, durante al menos 1 año o durante al menos 5 años. En algunos casos, a los sujetos se les puede administrar compuestos o composiciones de la presente divulgación durante la vida de tales sujetos.

En algunos casos, los métodos de la divulgación incluyen métodos de inhibición de la actividad de C5 en un sujeto. La "actividad del complemento dependiente de C5" o "actividad de C5", tal como se usa en el presente documento se refiere a la activación de la cascada del complemento a través de la escisión de C5, el ensamblaje aguas abajo de productos de escisión de C5, o cualquier otro proceso o acontecimiento asociado a, o resultante de, la escisión de C5. En algunos casos, el porcentaje de actividad de C5 inhibido en un sujeto puede ser de al menos el 10%, al menos el 20%, al menos el 30%, al menos el 40%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, al menos el 99,5% o al menos el 99,9%.

En algunos casos, los métodos de la divulgación pueden incluir métodos de inhibición de la hemólisis mediante la administración de uno o más compuestos o composiciones de la divulgación a un sujeto o paciente que lo necesita. Según algunos de tales métodos, la hemólisis puede reducirse en desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 99%. En otros casos, la hemólisis se reduce en desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 40%, desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 75%, desde aproximadamente el 30% hasta aproximadamente el 60%, desde aproximadamente el 50% hasta aproximadamente el 90%, desde aproximadamente el 75% hasta aproximadamente el 95%, desde aproximadamente el 90% hasta aproximadamente el 99%, o desde aproximadamente el 97% hasta aproximadamente el 99,5%. En algunos casos, hemólisis se reduce en al menos el 50%, el 60%, el 70%, el 80%, el 90% o el 95%.

Según algunos métodos, el porcentaje de inhibición de hemólisis es desde aproximadamente  $\geq 90\%$  hasta aproximadamente  $\geq 99\%$  (por ejemplo,  $\geq 91\%$ ,  $\geq 92\%$ ,  $\geq 93\%$ ,  $\geq 94\%$ ,  $\geq 95\%$ ,  $\geq 96\%$ ,  $\geq 97\%$ ,  $\geq 98\%$ ). En algunos casos, este nivel de inhibición y/o inhibición máxima de hemólisis puede lograrse en desde aproximadamente 1 hora después de una administración hasta aproximadamente 3 horas después de una administración, desde aproximadamente 2 horas después de una administración hasta aproximadamente 4 horas después de una administración, desde aproximadamente 3 horas después de una administración hasta aproximadamente 10 horas después de una administración, desde aproximadamente 5 horas después de una administración hasta aproximadamente 20 horas después de una administración o desde aproximadamente 12 horas después de una administración hasta aproximadamente 24 horas después de una administración. La inhibición de los niveles de la actividad de hemólisis puede continuar durante todo un periodo de al menos 1 día, de al menos 2 días, de al menos 3 días, de al menos 4 días, de al menos 5 días, de al menos 6 días, de al menos 7 días, de al menos 2 semanas, de al menos 3 semanas o de al menos 4 semanas. En algunos casos, este nivel de inhibición puede lograrse a través de la administración diaria. Tal administración diaria puede incluir administración durante al menos 2 días, durante al menos 3 días, durante al menos 4 días, durante al menos 5 días, durante al menos 6 días, durante al menos 7 días, durante al menos 2 semanas, durante al menos 3 semanas, durante al menos 4 semanas, durante al menos 2 meses, durante al menos 4 meses, durante al menos 6 meses, durante al menos 1 año o durante al menos 5 años. En algunos casos, a los sujetos se les puede administrar compuestos o composiciones de la presente divulgación durante la vida de tales sujetos.

Los inhibidores de C5 de la divulgación pueden usarse para tratar una o más indicaciones, en las que se producen unos pocos o ningún efecto adverso como resultado del tratamiento con inhibidores de C5. En algunos casos, no se produjeron acontecimientos adversos cardiovasculares, respiratorios y/o del sistema nervioso central (SNC). En algunos casos, no se producen cambios en la frecuencia cardíaca y/o tensión arterial. En algunos casos, no se producen cambios en la frecuencia respiratoria, el volumen corriente y/o el volumen respiratorio por minuto.

Por "disminuir" o "reducir" en el contexto de un síntoma o marcador de enfermedad quiere decirse una disminución significativa en tal nivel, a menudo estadísticamente significativa. La disminución puede ser, por ejemplo, de al menos el 10%, al menos el 20%, al menos el 30%, al menos el 40% o más, y es preferiblemente hasta un nivel

aceptado como dentro del intervalo normal para un individuo sin tal trastorno.

Por "aumentar" o "elevar" en el contexto de un síntoma o marcador de enfermedad quiere decirse una elevación significativa en tal nivel, a menudo estadísticamente significativa. El aumento puede ser, por ejemplo, de al menos el 10%, al menos el 20%, al menos el 30%, al menos el 40% o más, y es preferiblemente hasta un nivel aceptado como dentro del intervalo normal para un individuo sin tal trastorno.

Un tratamiento o efecto preventivo es evidente cuando existe una mejora significativa, a menudo estadísticamente significativa, en uno o más parámetros de estado patológico, o por una incapacidad para empeorar o desarrollar síntomas donde se anticiparían de otro modo. Como ejemplo, un cambio favorable de al menos el 10% en un parámetro medible de enfermedad, y preferiblemente al menos el 20%, el 30%, el 40%, el 50% o más puede ser indicativo de tratamiento eficaz. La eficacia para un compuesto o composición dados puede evaluarse usando un modelo animal experimental para la enfermedad dada como se conoce en la técnica. Cuando se usa un modelo animal experimental, la eficacia de tratamiento resulta evidente cuando se observa una modulación estadísticamente significativa en un marcador o síntoma.

#### *Hemoglobinuria paroxística nocturna*

Se divulgan en el presente documento métodos de tratamiento de hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) con compuestos o composiciones, por ejemplo, composiciones farmacéuticas, de la divulgación. La HPN es un trastorno relacionado con el complemento poco frecuente provocado por una mutación adquirida en el gen de biosíntesis de anclaje de fosfatidilinositol glicano, clase A (PIG-A) que se origina a partir de una célula madre hematopoyética multipotente (Pu, J.J. *et al.*, Clin Transl Sci. Junio de 2011;4(3):219-24). La HPN se caracteriza por trastorno de la médula ósea, anemia hemolítica y trombosis. El producto génico PIG-A es necesario para la producción de un anclaje glicolipídico, glicosilfosfatidilinositol (GPI), utilizado para anclar proteínas a la membrana plasmática. Dos proteínas reguladoras del complemento responsables de proteger células de la actividad lítica del complejo del complemento terminal, CD55 (factor acelerador de la degradación) y CD59 (inhibidor de la membrana de lisis reactiva), se vuelven no funcionales en ausencia de GPI. Esto conduce a la activación de C5 y acumulación de proteínas del complemento específicas en la superficie de glóbulos rojos (RBC) que conduce a la destrucción mediada por el complemento de estas células.

Los pacientes con HPN inicialmente presentan hemoglobinuria, dolor abdominal, distonías de músculo liso y fatiga, por ejemplo, síntomas o trastornos relacionados con la HPN. La HPN también se caracteriza por hemólisis intravascular (la manifestación clínica primaria de la enfermedad) y trombosis venosa. La trombosis venosa puede producirse en sitios inusuales incluyendo, pero no limitados a venas hepáticas, mesentéricas, cerebrales y dérmicas. (Parker, C. *et al.*, 2005. Blood. 106: 3699-709 y Parker, C.J., 2007. Exp. Hematol. 35: 523-33). Actualmente, eculizumab (SOLIRIS®, Alexion Pharmaceuticals, Cheshire, CT), un anticuerpo monoclonal inhibidor de C5, es el único tratamiento aprobado para la HPN.

El tratamiento con eculizumab da como resultado un control adecuado de la hemólisis intravascular en la mayoría de los pacientes con HPN (Schrezenmeier, H. *et al.*, 2014. Haematologica. 99: 922-9). Sin embargo, Nishimura y colaboradores han descrito a 11 pacientes en Japón (3,2% de los pacientes con HPN) que tienen mutaciones en el gen C5 que impiden la unión de eculizumab a C5 y no responden al tratamiento con el anticuerpo (Nishimura, J-I. *et al.*, 2014. N Engl J Med. 370: 632-9). Además, eculizumab se administra cada 2 semanas como una infusión i.v. bajo la supervisión de un profesional sanitario, lo cual es inconveniente y representa una carga para los pacientes.

La administración i.v. a largo plazo tiene el potencial de provocar complicaciones graves, tales como infecciones, trombosis local, hematomas y acceso venoso progresivamente reducido. Además, eculizumab es una proteína grande y está asociada con el riesgo de inmunogenicidad e hipersensibilidad. Finalmente, mientras que eculizumab se une a C5 y evita la generación de C5b, cualquier C5b generado a través de una inhibición incompleta puede iniciar la formación de MAC y provocar hemólisis.

La sangre periférica de pacientes con HPN puede variar en las proporciones de células normales y anómalas. La enfermedad se subclasifica según el Grupo Internacional de Interés en HPN basándose en las características clínicas, las características de la médula ósea y el porcentaje de leucocitos polimorfonucleares (PMN) deficientes en GPI-AP. Como los glóbulos rojos deficientes en GPI-AP son más sensibles a la destrucción en pacientes con HPN, el análisis de citometría de flujo de PMN se considera más informativo (Parker, C.J., 2012. Curr Opin Hematol. 19: 141-8). El análisis de citometría de flujo en la HPN clásica muestra de 50 al 100% de PMN deficientes en GPI-AP.

La anemia hemolítica de la HPN es independiente de los autoanticuerpos (Coombs negativo) y resulta de la activación incontrolada de la vía alternativa (AP) del complemento.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son particularmente útiles en el tratamiento de HPN. Tales composiciones pueden incluir R5000. Los inhibidores de C5 de la divulgación, útiles para el tratamiento de HPN pueden, en algunos casos, bloquear la escisión de C5 en C5a y C5b. En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación pueden usarse como una alternativa a la terapia con eculizumab para la HPN. A

diferencia del eculizumab, los inhibidores de C5 de la divulgación pueden unirse a C5b, evitando la unión de C6 y el posterior ensamblaje de MAC de C5b-9.

5 En algunos casos, R5000 y sus composiciones pueden usarse para tratar la HPN en sujetos. Tales sujetos pueden incluir sujetos que hayan tenido efectos adversos, no hayan respondido, hayan demostrado una capacidad de respuesta reducida o hayan demostrado resistencia a otros tratamientos (por ejemplo, con eculizumab). En algunas realizaciones, el tratamiento con compuestos y composiciones de la presente divulgación puede inhibir la hemólisis de los glóbulos rojos de HPN de manera dependiente de la dosis.

10 En algunas realizaciones, R5000 se administra en combinación con eculizumab en un régimen que puede implicar un tratamiento paralelo o en serie.

15 Basándose en la secuencia y los datos estructurales, R5000 puede ser particularmente útil para el tratamiento de la HPN en el número limitado de pacientes con mutaciones en el gen C5 que evitan la unión de eculizumab a C5. Un ejemplo de tales pacientes son aquellos con una sola mutación heterocigótica C5 sin sentido, c.2654G-> A, que predice el polimorfismo p.Arg885His (para una descripción de este polimorfismo, véase Nishimura, J. *et al.*, N Engl J Med. 2014. 370 (7): 632-9). Al igual que eculizumab, R5000 bloquea la escisión proteolítica de C5 en C5a y C5b. A diferencia de eculizumab, R5000 también puede unirse a C5b y bloquear la asociación con C6, evitando el posterior ensamblaje del MAC. Por tanto, ventajosamente cualquier C5b que surge de la inhibición incompleta por R5000 no puede unirse a C6 y completar el ensamblaje del MAC.

20 En algunos casos, R5000 se usa como una alternativa terapéutica al eculizumab para pacientes con HPN que puede ofrecer eficacia añadida sin los inconvenientes y las responsabilidades de la administración i.v. y los riesgos conocidos de inmunogenicidad e hipersensibilidad asociados con los anticuerpos monoclonales. Además, las complicaciones graves de la administración i.v. a largo plazo, tales como infecciones, pérdida de acceso venoso, trombosis local y hematomas, pueden superarse con R5000 administrado por inyección subcutánea (s.c.).

#### *Indicaciones inflamatorias*

30 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar sujetos con enfermedades, trastornos y/o estados relacionados con inflamación. La inflamación puede regularse por incremento durante la cascada proteolítica del sistema del complemento. Aunque la inflamación puede tener efectos beneficiosos, el exceso de inflamación puede conducir a una variedad de patologías (Markiewski *et al.* 2007. Am J Pathol. 17: 715-27). Por consiguiente, las composiciones de la presente invención pueden usarse para reducir o eliminar la inflamación asociada con la activación del complemento.

#### *Inflamación estéril*

40 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden usarse para tratar, prevenir o retrasar el desarrollo de inflamación estéril. La inflamación estéril es la inflamación que se produce en respuesta a estímulos distintos de la infección. La inflamación estéril puede ser una respuesta común al estrés, tal como el estrés genómico, el estrés hipóxico, el estrés nutricional o el estrés del retículo endoplásmico provocado por un estímulo nocivo físico, químico o metabólico. La inflamación estéril puede contribuir a la patogénesis de muchas enfermedades tales como, pero no limitadas a, lesiones inducidas por isquemia, artritis reumatoide, lesiones pulmonares agudas, lesiones hepáticas inducidas por fármacos, enfermedades inflamatorias intestinales y/u otras enfermedades, trastornos o estados. El mecanismo de la inflamación estéril y los métodos y composiciones para el tratamiento, prevención y/o retraso de los síntomas de la inflamación estéril pueden incluir cualquiera de los enseñados por Rubartelli *et al.* en *Frontiers in Immunology*, 2013, 4: 398-99, Rock *et al.* en *Annu Rev Immunol*. 2010, 28: 321-342 o en la patente estadounidense n.º 8.101.586.

#### *Respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y septicemia*

50 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar y/o prevenir el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). El SIRS es una inflamación que afecta a todo el cuerpo. Cuando el SIRS es provocado por una infección, se conoce como septicemia. El SIRS también puede ser provocado por acontecimientos no infecciosos tales como traumatismos, lesiones, quemaduras, isquemia, hemorragia y/u otros estados. Entre los resultados negativos asociados con SIRS y/o septicemia se encuentra el fallo multiorgánico (MOF). La inhibición del complemento a nivel C3 en la septicemia Gram-negativa protege significativamente los órganos contra MOF progresiva inducida por *E. coli*, pero también dificulta el aclaramiento bacteriano. Los compuestos y composiciones descritos en el presente documento incluyen inhibidores del componente del complemento C5 que pueden administrarse a sujetos con septicemia para proporcionar los beneficios de la protección de órganos sin alterar perjudicialmente el aclaramiento bacteriano.

65 En algunos casos, la presente divulgación proporciona métodos para tratar la septicemia. La septicemia puede inducirse por una infección microbiana. La infección microbiana puede incluir al menos un agente infeccioso Gram-negativo. Tal como se usa en el presente documento, el término "agente infeccioso" se refiere a cualquier entidad

que invade o de otro modo infecta una célula, tejido, órgano, compartimento o fluido de una muestra o sujeto. En algunos casos, los agentes infecciosos pueden ser bacterias, virus u otros patógenos. Los agentes infecciosos Gram-negativos son bacterias Gram-negativas. Los agentes infecciosos Gram-negativos pueden incluir, pero no se limitan a *E. coli*.

5 Los métodos de tratamiento de septicemia pueden incluir la administración de uno o más inhibidores de C5 a un sujeto. El inhibidor de C5 puede ser R5000. Según algunos métodos, la activación del complemento puede reducirse o prevenirse. La reducción o prevención de la actividad del complemento puede determinarse detectando uno o más  
10 productos de la actividad del complemento en una muestra del sujeto. Tales productos pueden incluir productos de escisión de C5 (por ejemplo, C5a y C5b) o complejos posteriores formados como resultado de la escisión de C5 (por ejemplo, C5b-9). En algunos casos, la presente divulgación proporciona métodos de tratamiento de septicemia con R5000, en los que los niveles de C5a y/o C5b-9 se reducen o eliminan en el sujeto y/o en al menos una muestra obtenida del sujeto. Por ejemplo, los niveles de C5a y/o C5b-9 pueden reducirse en sujetos a los que se les  
15 administra R5000 (o en muestras obtenidas de tales sujetos) en desde aproximadamente el 0% hasta aproximadamente el 0,05%, desde aproximadamente el 0,01% hasta aproximadamente el 1%, desde aproximadamente el 0,05% hasta aproximadamente el 2%, desde aproximadamente el 0,1% hasta aproximadamente el 5%, desde aproximadamente el 0,5% hasta aproximadamente el 10%, desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 15%, desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 25%, desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 50%, desde aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 60%, desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 75%, desde aproximadamente el 50% hasta  
20 aproximadamente el 100% en comparación con sujetos (o muestras del sujeto) no tratados con R5000 (incluyendo sujetos tratados con otros inhibidores del complemento) o en comparación con el mismo sujeto (o muestras del sujeto) durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior.

25 En algunos casos, los niveles de C5b-9 reducidos por el tratamiento con R5000 son niveles de C5b-9 asociados con una o más de la ruta clásica de activación del complemento, la ruta alternativa de activación del complemento, y la ruta de lectina de activación del complemento.

En algunos casos, la presencia, ausencia y/o niveles de uno o más factores asociados con septicemia puede modularse mediante la administración de R5000 a un sujeto con septicemia. La presencia o ausencia de tales factores puede determinarse usando ensayos para su detección. Los cambios en los niveles de los factores pueden determinarse determinando el nivel de tales factores en un sujeto con septicemia después del tratamiento con R5000 y comparando esos niveles con niveles anteriores en el mismo sujeto (o bien antes del tratamiento con R5000 o bien durante uno o más periodos de tratamiento anteriores) o con niveles en sujetos que no se tratan con R5000 (incluyendo sujetos con septicemia que no reciben tratamiento o sujetos que reciben alguna otra forma de  
35 tratamiento). Las comparaciones pueden presentarse por diferencias en porcentaje en los niveles de factores entre sujetos tratados con R5000 y sujetos no tratados con R5000.

El producto de escisión de C5 puede incluir cualquier proteína o complejo que pueda resultar de la escisión de C5.  
40 En algunos casos, los productos de escisión de C5 pueden incluir, pero no se limitan a, C5a y C5b. El producto de escisión de C5b puede formar un complejo con proteínas del complemento C6, C7, C8 y C9 (denominado en el presente documento "C5b-9"). Por consiguiente, los productos de escisión de C5 que incluyen C5b-9 pueden detectarse y/o cuantificarse para determinar si la actividad del complemento se ha reducido o evitado. La detección de la deposición de C5b-9 puede llevarse a cabo, por ejemplo, a través del uso del ensayo ELISA WIESLAB® (Euro Diagnostica, Malmo, Suecia). La cuantificación de productos de escisión puede medirse en "unidades arbitrarias del complemento" (CAU) tal como describieron otros (por ejemplo, véase Bergseth G *et al.*, 2013. Mol Immunol. 56:232-9).

En algunos casos, tratar la septicemia con un inhibidor de C5 (por ejemplo, R5000) puede reducir o prevenir la  
50 producción de C5b-9.

Según la presente divulgación, la administración de R5000 a un sujeto puede dar como resultado modulación del aclaramiento bacteriano en el sujeto y/o en al menos una muestra obtenida del sujeto. Aclaramiento bacteriano, tal como se hace referencia en el presente documento, es la eliminación/reducción parcial o completa de bacterias de un sujeto o muestra. El aclaramiento puede producirse a modo de destrucción o de otro modo haciendo que las bacterias sean incapaces del crecimiento y/o reproducción. En algunos casos, el aclaramiento bacteriano puede producirse a través de lisis bacteriana y/o destrucción inmunitaria (por ejemplo, a través de fagocitosis, lisis de células bacterianas, opsonización, etc.). Según algunos métodos, el aclaramiento bacteriano en sujetos tratados con inhibidores de C5 (por ejemplo, R5000) puede no tener efecto o tener un efecto beneficioso sobre el aclaramiento bacteriano. Esto puede producirse debido a la ausencia de o un efecto disminuido sobre los niveles de C3b con inhibición de C5. En algunos casos, los métodos de tratamiento de septicemia con R5000 pueden evitar la interferencia con opsonización dependiente de C3b o potenciar la opsonización dependiente de C3b.  
60

En algunos casos, el aclaramiento bacteriano con tratamiento con R5000 puede potenciarse en comparación con el aclaramiento bacteriano en un sujeto no tratado o en un sujeto tratado con otra forma de inhibidor del complemento, por ejemplo, un inhibidor de C3. En algunos casos, los sujetos con septicemia que se tratan con R5000 pueden  
65

5 experimentar del 0% a al menos el 100% de aclaramiento bacteriano potenciado en comparación con aclaramiento bacteriano en sujetos no tratados con R5000 (incluyendo sujetos tratados con otros inhibidores del complemento) o en comparación con niveles de aclaramiento bacteriano anteriores en el mismo sujeto antes del tratamiento con R5000 o durante un periodo de tratamiento anterior con R5000. Por ejemplo, el aclaramiento bacteriano en sujetos  
 10 tratados con R5000 y/o en al menos una muestra obtenida de tales sujetos puede potenciarse en desde aproximadamente el 0% hasta aproximadamente el 0,05%, desde aproximadamente el 0,01% hasta aproximadamente el 1%, desde aproximadamente el 0,05% hasta aproximadamente el 2%, desde aproximadamente el 0,1% hasta aproximadamente el 5%, desde aproximadamente el 0,5% hasta aproximadamente el 10%, desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 15%, desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 25%, desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 50%, desde aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 60%, desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 75%, desde aproximadamente el 50% hasta aproximadamente el 100% en comparación con sujetos no tratados con R5000 (incluyendo sujetos tratados con otros inhibidores del complemento) y/o en comparación con muestras obtenidas de tales sujetos o en comparación con el mismo sujeto durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de  
 15 tratamiento anterior y/o en comparación con muestras obtenidas de el mismo sujeto durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior.

20 El aclaramiento bacteriano puede medirse en un sujeto midiendo directamente niveles bacterianos en el sujeto y/o una muestra del sujeto o midiendo uno o más indicadores de aclaramiento bacteriano (por ejemplo, niveles de componentes bacterianos liberados después de la lisis bacteriana). Los niveles de aclaramiento bacteriano pueden determinarse entonces mediante comparación con una medición previa de niveles bacterianos/indicadores o con niveles bacterianos/indicadores en un sujeto que no recibe tratamiento o un tratamiento diferente. En algunos casos, las unidades formadoras de colonias (ufc) de sangre recogida (por ejemplo, para generar ufc/ml de sangre) se examinan para determinar niveles bacterianos.

25 En algunos casos, puede llevarse a cabo tratamiento de septicemia con R5000 sin ningún efecto sobre la fagocitosis o sin empeoramiento sustancial de la fagocitosis. Esto puede incluir fagocitosis dependiente de neutrófilos y/o dependiente de monocitos. La fagocitosis no empeorada o sustancialmente no empeorada con tratamiento con R5000 puede deberse a cambios limitados o inexistentes de los niveles de C3b con tratamiento con R5000.

30 El estallido oxidativo es un proceso dependiente de C5a, caracterizado por la producción de peróxido por determinadas células, particularmente macrófagos y neutrófilos, tras la exposición por un patógeno (véase Mollnes T. E. *et al.*, 2002. Blood 100, 1869-1877).

35 En algunos casos, el estallido oxidativo puede reducirse o prevenirse en sujetos con septicemia después del tratamiento con R5000. Esto puede deberse a una disminución en los niveles de C5a con inhibición de C5 dependiente de R5000. El estallido oxidativo puede reducirse en sujetos a los que se les administra R5000 en desde aproximadamente el 0% hasta aproximadamente el 0,05%, desde aproximadamente el 0,01% hasta aproximadamente el 1%, desde aproximadamente el 0,05% hasta aproximadamente el 2%, desde aproximadamente el 0,1% hasta aproximadamente el 5%, desde aproximadamente el 0,5% hasta aproximadamente el 10%, desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 15%, desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 25%, desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 50%, desde aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 60%, desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 75%, desde aproximadamente el 50% hasta aproximadamente el 100% en comparación con sujetos no tratados con R5000 (incluyendo sujetos tratados con otros inhibidores del complemento) o en comparación con el mismo sujeto durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior.

50 El lipopolisacárido (LPS) es un componente de capas de células bacterianas que es un estimulador del sistema inmunitario conocido. La bacteriólisis dependiente del complemento puede conducir a la liberación de LPS, lo que contribuye a respuestas inflamatorias, tales como aquellas características de septicemia. En algunos casos, el tratamiento de septicemia con R5000 puede reducir los niveles de LPS. Esto puede deberse a una disminución en la bacteriólisis mediada por el complemento con inhibición de la actividad del complemento dependiente de C5. En algunos casos, los niveles de LPS pueden reducirse o eliminarse en sujetos a los que se les administra R5000 (o en muestras obtenidas de tales sujetos) en desde aproximadamente el 0% hasta aproximadamente el 0,05%, desde aproximadamente el 0,01% hasta aproximadamente el 1%, desde aproximadamente el 0,05% hasta aproximadamente el 2%, desde aproximadamente el 0,1% hasta aproximadamente el 5%, desde aproximadamente el 0,5% hasta aproximadamente el 10%, desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 15%, desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 25%, desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 50%, desde aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 60%, desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 75%, desde aproximadamente el 50% hasta aproximadamente el 100% en comparación con sujetos (o muestras del sujeto) no tratados con R5000 (incluyendo sujetos tratados con otros inhibidores del complemento) o en comparación con el mismo sujeto (o muestras del sujeto) durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior.

65 En algunos casos, los niveles de LPS pueden reducirse en el 100% en sujetos (o muestras del sujeto) con septicemia que se tratan con R5000 en comparación con sujetos (o muestras del sujeto) con septicemia que no se

tratan con R5000 (incluyendo sujetos que reciben una o más de otras formas de tratamiento) o en comparación con el mismo sujeto (o muestra del sujeto) durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior.

5 En algunos casos de la presente divulgación, los niveles inducidos por septicemia de una o más citocinas pueden reducirse con tratamiento con R5000. Las citocinas incluyen cantidades de moléculas de señalización celular que estimulan respuestas inmunitarias frente a infección. "Tormenta de citocinas" es una drástica regulación por incremento de al menos cuatro citocinas, interleucina (IL)-6, IL-8, la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), que pueden resultar de la infección bacteriana y contribuyen a septicemia. Se sabe que C5a induce la síntesis y actividad de estas citocinas. Los inhibidores de C5, pueden por tanto reducir los niveles de citocina reduciendo los niveles de C5a. Los niveles de citocina pueden evaluarse en sujetos o muestras del sujeto para evaluar la capacidad de los inhibidores de C5 para reducir los niveles de una o más citocinas inflamatorias reguladas por incremento durante septicemia. Los niveles de IL-6, IL-8, MCP-1 y/o TNF $\alpha$  pueden disminuirse en sujetos a los que se les administra R5000 en desde aproximadamente el 0% hasta aproximadamente el 0,05%, desde aproximadamente el 0,01% hasta aproximadamente el 1%, desde aproximadamente el 0,05% hasta aproximadamente el 2%, desde aproximadamente el 0,1% hasta aproximadamente el 5%, desde aproximadamente el 0,5% hasta aproximadamente el 10%, desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 15%, desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 25%, desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 50%, desde aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 60%, desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 75%, desde aproximadamente el 50% hasta aproximadamente el 100% en comparación con sujetos no tratados con R5000 (incluyendo sujetos tratados con otros inhibidores del complemento) o en comparación con el mismo sujeto durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior. En algunos casos, los niveles de IL-6, IL-8, MCP-1 y/o TNF $\alpha$  pueden reducirse en el 100% en sujetos con septicemia que se tratan con R5000 en comparación con sujetos con septicemia que no se tratan con R5000 (incluyendo sujetos que reciben una o más de otras formas de tratamiento) o en comparación con el mismo sujeto durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior.

30 Una complicación asociada septicemia es la desregulación de las rutas de coagulación y/o fibrinólisis (Levi M., *et al.*, 2013. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 39, 559-66; Rittirsch D., *et al.*, 2008. *Nature Reviews Immunology* 8, 776-87; y Dempfle C., 2004. *A Thromb Haemost.* 91(2):213-24). Aunque es importante una activación local controlada de estas rutas para defender contra patógenos, una activación descontrolada, sistémica puede ser perjudicial. La actividad del complemento asociada con infección bacteriana puede promover la desregulación de coagulación y/o fibrinólisis debido a daño tisular y de célula huésped aumentado asociado con la formación de MAC. En algunos casos, el tratamiento de septicemia con R5000 puede normalizar las rutas de coagulación y/o fibrinólisis.

35 La desregulación de la coagulación y/o fibrinólisis asociada con septicemia puede incluir la coagulación intravascular diseminada (CID). La DIC es un estado que provoca daños en los tejidos y órganos debido a la activación de la coagulación y la formación de coágulos sanguíneos en pequeños vasos sanguíneos. Esta actividad reduce el flujo sanguíneo a los tejidos y órganos y consume los factores sanguíneos necesarios para la coagulación en el resto del cuerpo. La ausencia de estos factores sanguíneos en el torrente sanguíneo puede conducir a un sangrado incontrolado en otras partes del cuerpo. En algunos casos, el tratamiento de septicemia con R5000 puede reducir o eliminar la DIC.

45 La disfunción de la coagulación asociada con septicemia puede detectarse midiendo el tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) y/o el tiempo de protrombina (PT). Estas son pruebas realizadas en muestras de plasma para determinar si los niveles de factor de coagulación son bajos. En sujetos con DIC, APTT y/o PT se prolongan debido a niveles reducidos de factores de coagulación. En algunos casos, el tratamiento del sujeto de septicemia con R5000 puede disminuir y/o normalizar APTT y/o PT en muestras obtenidas de sujetos tratados.

50 La disfunción de la coagulación asociada con septicemia puede evaluarse adicionalmente mediante el análisis de los niveles del complejo trombina-antitrombina (TAT) y/o la expresión de leucocitos del ARNm del factor tisular (TF). Los niveles elevados de complejo TAT y la expresión de leucocitos del ARNm de TF están asociados con la disfunción de la coagulación y son coherentes con la DIC. En algunos casos, el tratamiento de septicemia con R5000 puede dar como resultado una reducción en los niveles de TAT y/o niveles de ARNm de TF de leucocitos de desde aproximadamente el 0,005% hasta aproximadamente el 0,05%, desde aproximadamente el 0,01% hasta aproximadamente el 1%, desde aproximadamente el 0,05% hasta aproximadamente el 2%, desde aproximadamente el 0,1% hasta aproximadamente el 5%, desde aproximadamente el 0,5% hasta aproximadamente el 10%, desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 15%, desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 25%, desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 50%, desde aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 60%, desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 75%, desde aproximadamente el 50% hasta aproximadamente el 100% en comparación con sujetos no tratados con R5000 (incluyendo sujetos tratados con otros inhibidores del complemento) o en comparación con el mismo sujeto durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior. En algunos casos, los niveles de TAT y/o los niveles de ARNm de TF de leucocitos pueden reducirse en el 100% en sujetos con septicemia que se tratan con R5000 en comparación con sujetos con septicemia que no se tratan con R5000 (incluyendo sujetos que reciben una o más de otras formas de tratamiento) o en comparación con el mismo sujeto durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior.

El factor XII es un factor importante para la coagulación normal en plasma. Los niveles de factor XII pueden disminuir en muestras de plasma tomadas de sujetos con disfunción de la coagulación (por ejemplo, DIC) debido al consumo de factor XII asociado con la coagulación en pequeños vasos sanguíneos. En algunos casos, el tratamiento de septicemia con R5000 puede reducir el consumo de factor XII. En consecuencia, los niveles de factor XII pueden aumentar en muestras de plasma tomadas de sujetos con septicemia después del tratamiento con R5000. Los niveles de factor XII pueden aumentarse en muestras de plasma en desde aproximadamente el 0,005% hasta aproximadamente el 0,05%, desde aproximadamente el 0,01% hasta aproximadamente el 1%, desde aproximadamente el 0,05% hasta aproximadamente el 2%, desde aproximadamente el 0,1% hasta aproximadamente el 5%, desde aproximadamente el 0,5% hasta aproximadamente el 10%, desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 15%, desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 25%, desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 50%, desde aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 60%, desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 75%, desde aproximadamente el 50% hasta aproximadamente el 100% en comparación con sujetos no tratados con R5000 (incluyendo sujetos tratados con otros inhibidores del complemento) o cuando se comparan con muestras de plasma tomadas del mismo sujeto durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior. En algunos casos, los niveles de factor XII pueden aumentarse en el 100% en muestras de plasma de sujetos con septicemia que se tratan con R5000 en comparación con las muestras de plasma de sujetos con septicemia que no se tratan con R5000 (incluyendo sujetos que reciben una o más formas diferentes de tratamiento) o en comparación con muestras de plasma tomadas del mismo sujeto durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior.

La fibrinólisis es la descomposición de la fibrina debido a la actividad enzimática, un proceso crítico para la formación de coágulos. La desregulación de la fibrinólisis puede producirse en una septicemia grave y se informa que afecta la coagulación normal en los babuinos expuestos con *E. coli* (P. de Boer J.P., et al., 1993. Circulatory shock. 39, 59-67). Los indicadores plasmáticos de la disfunción de fibrinólisis dependiente de septicemia (que incluyen, pero no se limitan a disfunción de fibrinólisis asociada con DIC) pueden incluir, pero no se limitan a niveles disminuidos de fibrinógeno (lo que indica una capacidad reducida para formar coágulos de fibrina), niveles de activador de plasminógeno tisular (tPA) aumentados, niveles de inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1 aumentados (PAI-1), niveles de plasmina-antiplasmina (PAP) aumentados, productos de degradación de fibrinógeno/fibrina aumentados y niveles de dímero D aumentados. En algunos casos, el tratamiento de septicemia con R5000 puede dar como resultado una disminución en los niveles plasmáticos de fibrinógeno y/o un aumento en los niveles plasmáticos de tPA, PAI-1, PAP, producto de degradación de fibrinógeno/fibrina y/o dímero D de desde aproximadamente el 0,005% hasta aproximadamente el 0,05%, desde aproximadamente el 0,01% hasta aproximadamente el 1%, desde aproximadamente el 0,05% hasta aproximadamente el 2%, desde aproximadamente el 0,1% hasta aproximadamente el 5%, desde aproximadamente el 0,5% hasta aproximadamente el 10%, desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 15%, desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 25%, desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 50%, desde aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 60%, desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 75%, desde aproximadamente el 50% hasta aproximadamente el 100% en comparación con los niveles en muestras de plasma de sujetos no tratados con R5000 (incluyendo sujetos tratados con otros inhibidores del complemento) o en comparación con los niveles en muestras de plasma tomadas del mismo sujeto durante un periodo de tratamiento previo o un periodo de tratamiento anterior. En algunos casos, la disminución asociada a la septicemia en los niveles plasmáticos de fibrinógeno y/o un aumento asociado a la septicemia en los niveles plasmáticos de tPA, PAI-1, PAP, producto de degradación de fibrinógeno/fibrina y/o dímero D pueden diferir en al menos el 10.000% en comparación con los niveles en muestras de plasma de sujetos con septicemia tratados con R5000.

Otra consecuencia de la actividad hiperactiva del complemento asociada con septicemia es una reducción en los glóbulos rojos debido a la hemólisis dependiente del complemento y/o la opsonización dependiente de C3b. Los métodos para tratar la septicemia con R5000 según la presente divulgación pueden incluir reducir la hemólisis dependiente del complemento. Un método para evaluar la hemólisis dependiente del complemento asociada con septicemia implica obtener un hemograma completo. Pueden obtenerse hemogramas completos a través de procesos automatizados que cuentan los tipos de células presentes en las muestras de sangre. Los resultados del análisis de hemograma completo normalmente incluyen niveles de hematocrito, recuentos de glóbulos rojos (RBC), recuentos de glóbulos blancos (WBC) y plaquetas. Los niveles de hematocrito se usan para determinar el porcentaje de sangre (por volumen) que se compone de glóbulos rojos. Los niveles de hematocrito, los niveles de plaquetas, los niveles de glóbulos rojos y los niveles de glóbulos blancos pueden reducirse en la septicemia debido a la hemólisis. En algunos casos, el tratamiento de septicemia con R5000 aumenta los niveles de hematocrito, los niveles de plaquetas, los niveles de glóbulos rojos y/o los niveles de glóbulos blancos. Los aumentos pueden ser inmediatos o pueden producirse con el tiempo con el tratamiento (por ejemplo, tratamientos con dosis únicas o múltiples).

En algunos casos, el tratamiento del sujeto con R5000 puede disminuir la activación de leucocitos (por ejemplo, neutrófilos y macrófagos) asociada con la septicemia. "Activación", tal como se usa en el presente documento en el contexto de leucocitos, se refiere a la movilización y/o maduración de estas células para llevar a cabo funciones inmunitarias asociadas. La activación de leucocitos disminuida con el tratamiento con R5000 puede determinarse evaluando el sujeto tratado o una muestra obtenida del sujeto tratado.

En algunos casos, el tratamiento de septicemia con R5000 puede mejorar uno o más signos vitales en los sujetos tratados. Tales signos vitales pueden incluir, pero no se limitan a, frecuencia cardíaca, tensión arterial sistémica media (MSAP), frecuencia respiratoria, saturación de oxígeno y temperatura corporal.

5 En algunos casos, el tratamiento de septicemia con R5000 puede estabilizar o reducir la fuga capilar y/o la disfunción de la barrera endotelial asociada con septicemia (es decir, mantener o mejorar la fuga capilar y/o la disfunción de la barrera endotelial). La estabilización o reducción de la fuga capilar y/o la disfunción de la barrera endotelial puede determinarse midiendo los niveles de proteína plasmática y/o los niveles de albúmina plasmática totales. Un aumento en cualquiera de los niveles en comparación con los niveles plasmáticos asociados con septicemia puede indicar una pérdida capilar reducida. En consecuencia, el tratamiento de septicemia con R5000  
10 puede aumentar los niveles totales de proteína plasmática y/o albúmina plasmática.

Los métodos de la presente divulgación pueden incluir métodos para tratar la septicemia con R5000, en los que se reducen los niveles de una o más proteínas de fase aguda. Las proteínas de fase aguda son proteínas producidas por el hígado en condiciones inflamatorias. El tratamiento con R5000 puede reducir la inflamación asociada con septicemia y conducir a una producción disminuida de proteínas de fase aguda por el hígado.  
15

Según algunos métodos de la divulgación, el daño de órganos y/o disfunción orgánica inducidos por septicemia pueden reducirse, revertirse o prevenirse mediante el tratamiento con R5000. Los indicadores que pueden reducirse con una función orgánica mejorada pueden incluir, pero no se limitan a, lactato plasmático (que demuestra una perfusión y aclaramiento vascular mejorados), creatinina, nitrógeno ureico en sangre (ambos indican una función renal mejorada) y transaminasas hepáticas (que indican una función hepática mejorada). En algunos casos, la respuesta febril, el riesgo de infección secundaria y/o el riesgo de recurrencia de septicemia se reduce en sujetos tratados por septicemia con R5000.  
20

Los métodos de la presente divulgación pueden incluir prevenir la muerte relacionada con septicemia y/o mejorar el tiempo de supervivencia de los sujetos afectados por septicemia a través del tratamiento con R5000. El tiempo de supervivencia mejorado puede determinarse mediante la comparación del tiempo de supervivencia en sujetos tratados con R5000 con el tiempo de supervivencia en sujetos no tratados (incluyendo sujetos tratados con una o más de otras formas de tratamiento). En algunos casos, los tiempos de supervivencia se aumentan en al menos 1 día, al menos 2 días, al menos 3 días, al menos 4 días, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 7 días, al menos 2 semanas, al menos al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 4 meses, al menos 6 meses, al menos 1 año, al menos 2 años, al menos 5 años o al menos 10 años.  
25

En algunos casos, la administración de R5000 se lleva a cabo en una dosis única. En algunos casos, la administración de R5000 se lleva a cabo en múltiples dosis. Por ejemplo, la administración de R5000 puede incluir la administración de una dosis inicial, seguida de una o más dosis repetidas. Pueden administrarse dosis repetidas de desde aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 24 horas, desde aproximadamente 2 horas hasta aproximadamente 48 horas, desde aproximadamente 4 horas hasta aproximadamente 72 horas, desde aproximadamente 8 horas hasta aproximadamente 96 horas, desde aproximadamente 12 horas hasta aproximadamente 36 horas, o desde aproximadamente 18 horas hasta aproximadamente 60 horas después de una dosis previa. En algunos casos, pueden administrarse las dosis repetidas 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 2 semanas, 4 semanas, 2 meses, 4 meses, 6 meses o más de 6 meses después de una dosis previa. En algunos casos, pueden administrarse dosis repetidas según sea necesario para estabilizar o reducir la septicemia o para estabilizar o reducir uno o más efectos asociados con septicemia en un sujeto. Las dosis repetidas pueden incluir la misma cantidad de R5000 o una cantidad diferente.  
30  
35  
40  
45

Los compuestos y composiciones de la divulgación pueden usarse para controlar y/o equilibrar la activación del complemento para la prevención y el tratamiento de SIRS, septicemia y/o MOF. Los métodos para aplicar inhibidores del complemento para tratar SIRS y septicemia pueden incluir aquellos en la publicación estadounidense n.º US2013/0053302 o en la patente estadounidense n.º 8.329.169.  
50

#### *Síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA)*

55 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar y/o prevenir el desarrollo del síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA). El SDRA es una inflamación generalizada de los pulmones y puede estar provocado por un traumatismo, infección (por ejemplo, septicemia), neumonía grave y/o inhalación de sustancias nocivas. El SDRA es normalmente una complicación grave y potencialmente mortal. Los estudios sugieren que los neutrófilos pueden contribuir al desarrollo de SDRA al afectar la acumulación de células polimorfonucleares en los alvéolos pulmonares lesionados y el tejido intersticial de los pulmones. Por consiguiente, las composiciones de la invención pueden administrarse para reducir y/o prevenir la producción de factor tisular en neutrófilos alveolares. Las composiciones de la invención pueden usarse además para el tratamiento, prevención y/o retraso de SDRA, en algunos casos según cualquiera de los métodos enseñados en la publicación internacional n.º WO2009/014633.  
60  
65

#### *Periodontitis*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar o prevenir el desarrollo de periodontitis y/o estados asociados. La periodontitis es una inflamación crónica generalizada que conduce a la destrucción del tejido periodontal, que es el tejido que sostiene y rodea los dientes. El estado también implica la pérdida de hueso alveolar (hueso que retiene los dientes). La periodontitis puede estar provocada por una falta de higiene bucal que conduce a la acumulación de bacterias en la línea de las encías, también conocida como placa dental. Determinados estados de salud tales como diabetes o desnutrición y/o hábitos tales como fumar pueden aumentar el riesgo de periodontitis. La periodontitis puede aumentar el riesgo de accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, aterosclerosis, diabetes, osteoporosis, parto prematuro y otros problemas de salud. Los estudios demuestran una correlación entre periodontitis y actividad del complemento local. Las bacterias periodontales pueden inhibir o activar determinados componentes de la cascada del complemento. En consecuencia, los compuestos y composiciones de la divulgación pueden usarse para prevenir y/o tratar la periodontitis y las enfermedades y estados asociados. Los inhibidores de la activación del complemento y los métodos de tratamiento pueden incluir cualquiera de los enseñados por Hajishengallis en *Biochem Pharmacol.* 2010, 15; 80 (12): 1 y Lambris o en la publicación estadounidense n.º US2013/0344082.

*Dermatomiositis*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar la dermatomiositis. La dermatomiositis es una miopatía inflamatoria caracterizada por debilidad muscular e inflamación muscular crónica. La dermatomiositis a menudo comienza con una erupción cutánea asociada simultáneamente o que precede a la debilidad muscular. Las composiciones de la invención pueden usarse para reducir o prevenir la dermatomiositis.

*Heridas y lesiones*

Los compuestos y composiciones, por ejemplo, composiciones farmacéuticas, de la divulgación pueden usarse para tratar y/o promover la curación de diferentes tipos de heridas y/o lesiones. Tal como se usa en el presente documento, el término "lesión" normalmente se refiere a un traumatismo físico, pero puede incluir infección localizada o procesos patológicos. Las lesiones pueden caracterizarse por daño, deterioro o destrucción provocados por acontecimientos externos que afectan a partes del cuerpo y/u órganos. Las heridas están asociadas con cortes, golpes, quemaduras y/u otros impactos en la piel, dejando la piel rota o dañada. Las heridas y las lesiones a menudo son agudas, pero si no se curan adecuadamente pueden provocar complicaciones crónicas y/o inflamación.

*Heridas y quemaduras*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar y/o promover la curación de heridas. Una piel sana proporciona una barrera impermeable y protectora contra los patógenos y otros efectores ambientales. La piel también controla la temperatura corporal y la evaporación de fluidos. Cuando la piel está herida, estas funciones se interrumpen, lo que dificulta la curación de la piel. La herida inicia un conjunto de procesos fisiológicos relacionados con el sistema inmunitario que repara y regenera el tejido. La activación del complemento es uno de estos procesos. Los estudios de activación del complemento han identificado varios componentes del complemento relacionados con la curación de heridas según lo enseñado por van de Goot *et al.* en *J Burn Care Res* 2009, 30: 274-280 y Cazander *et al.* *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012:534291. En algunos casos, la activación del complemento puede ser excesiva, provocando muerte celular e inflamación mejorada (que conduce a una curación de la herida deteriorada y heridas crónicas). En algunos casos, los compuestos y composiciones de la presente divulgación pueden usarse para reducir o eliminar dicha activación del complemento para promover la curación de heridas. El tratamiento con compuestos y composiciones de la divulgación puede llevarse a cabo a cabo según cualquiera de los métodos para tratar heridas divulgados en la publicación internacional número WO2012/174055.

*Traumatismo craneal*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar y/o promover la curación de traumatismos craneales. Los traumatismos craneales incluyen lesiones en el cuero cabelludo, el cráneo o el cerebro. Los ejemplos de traumatismo craneal incluyen, pero no se limitan a, conmociones cerebrales, contusiones, fractura de cráneo, lesiones cerebrales traumáticas y/u otras lesiones. Los traumatismos craneales pueden ser leves o graves. En algunos casos, el traumatismo craneal puede conducir a complicaciones físicas y/o mentales a largo plazo o la muerte. Los estudios indican que los traumatismos craneales pueden inducir una activación inadecuada de la cascada del complemento intracraneal, lo que puede conducir a respuestas inflamatorias locales que contribuyen al daño cerebral secundario por el desarrollo de edema cerebral y/o muerte neuronal (Stahel *et al.* en *Brain Research Reviews*, 1998, 27: 243-56). Los compuestos y composiciones de la divulgación pueden usarse para tratar traumatismos craneales y/o para reducir o prevenir complicaciones secundarias relacionadas. Los métodos de uso de los compuestos y composiciones de la divulgación para controlar la activación de la cascada del complemento en traumatismos craneales pueden incluir cualquiera de los enseñados por Holers *et al.* en la patente estadounidense n.º 8.911.733.

*Lesión por aplastamiento*

5 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar y/o promover la curación de lesiones por aplastamiento. Las lesiones por aplastamiento son lesiones provocadas por una fuerza o presión ejercida sobre el cuerpo que provoca sangrado, hematomas, fracturas, lesiones nerviosas, heridas y/u otros daños al cuerpo. Las composiciones de la invención pueden usarse para reducir la activación del complemento tras lesiones por aplastamiento, promoviendo así la curación después de las lesiones por aplastamiento (por ejemplo, promoviendo la regeneración nerviosa, promoviendo la curación de fracturas, previniendo o tratando la inflamación y/u otras complicaciones relacionadas). Las composiciones de la invención pueden usarse para promover la curación según cualquiera de los métodos enseñados en la patente estadounidense n.º 8.703.136; las publicaciones internacionales n.ºs WO2012/162215; WO2012/174055; o la publicación estadounidense US2006/0270590.

*Lesión por isquemia/reperfusión*

15 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden usarse para tratar lesiones asociadas con isquemia y/o reperfusión. Tales lesiones pueden estar asociadas con intervención quirúrgica (por ejemplo, trasplante). Por consiguiente, los compuestos, las composiciones y/o los métodos de la presente divulgación pueden usarse para reducir o prevenir las lesiones por isquemia y/o reperfusión.

*Enfermedad autoinmunitaria*

20 Los compuestos y las composiciones, por ejemplo, composiciones farmacéuticas, de la divulgación pueden usarse para tratar sujetos con enfermedades y/o trastornos autoinmunitarios. El sistema inmunitario puede dividirse en los sistemas innato y adaptativo, en referencia a mecanismos de defensa inmediata inespecíficos y sistemas específicos de antígeno más complejos, respectivamente. El sistema del complemento forma parte del sistema inmunitario innato, que reconoce y elimina los patógenos. Además, las proteínas del complemento pueden modular la inmunidad adaptativa, conectando respuestas innatas y adaptativas. Las enfermedades y los trastornos autoinmunitarios son anomalías inmunitarias que hacen que el sistema seleccione como diana tejidos y sustancias propias. La enfermedad autoinmunitaria puede afectar a determinados tejidos u órganos del cuerpo. Los compuestos y las composiciones de la divulgación pueden usarse para modular el complemento en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades autoinmunitarias. En algunos casos, tales compuestos y composiciones pueden usarse según los métodos presentados en Ballanti *et al.* Immunol Res (2013) 56: 477-491.

*Síndrome antifosfolipídico (APS) y síndrome antifosfolipídico catastrófico (CAPS)*

35 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar el síndrome antifosfolipídico (APS) mediante el control de la activación del complemento. El APS es un estado autoinmunitario provocado por anticuerpos antifosfolipídicos que hacen que la sangre se coagule. El APS puede conducir a trombosis venosa o arterial recurrente en los órganos, y complicaciones en las circulaciones placentarias que provocan complicaciones relacionadas con el embarazo, tales como aborto espontáneo, muerte fetal, preeclampsia, parto prematuro y/u otras complicaciones. El síndrome antifosfolipídico catastrófico (CAPS) es una versión extrema y aguda de un estado similar que conduce a la oclusión de venas en varios órganos simultáneamente. Los estudios sugieren que la activación del complemento puede contribuir a las complicaciones relacionadas con el APS, incluyendo complicaciones relacionadas con el embarazo, complicaciones trombóticas (coagulación) y complicaciones vasculares. El compuesto y las composiciones de la divulgación pueden usarse para tratar estados relacionados con APS reduciendo o eliminando la activación del complemento. En algunos casos, los compuestos y las composiciones de la divulgación pueden usarse para tratar APS y/o complicaciones relacionadas con APS según los métodos enseñados por Salmon *et al.* Ann Rheum Dis 2002; 61 (Supl. II): ii46-ii50 y Mackworth-Young en Clin Exp Immunol 2004, 136: 393-401.

*Enfermedad de crioaglutininas*

55 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar la enfermedad de crioaglutininas (CAD), también denominada hemólisis mediada por crioaglutininas. La CAD es una enfermedad autoinmunitaria que resulta de una alta concentración de anticuerpos IgM que interactúan con los glóbulos rojos a temperaturas corporales de intervalo bajo [Engelhardt *et al.* Blood, 2002, 100 (5): 1922-23]. La CAD puede conducir a estados tales como anemia, fatiga, disnea, hemoglobinuria y/o acrocianosis. La CAD está relacionada con una activación del complemento robusta y los estudios han demostrado que la CAD puede tratarse con terapias inhibitorias del complemento. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona métodos para tratar CAD usando compuestos y composiciones de la divulgación. En algunos casos, las composiciones de la invención pueden usarse para tratar CAD según los métodos enseñados por Roth *et al.* en Blood, 2009, 113: 3885-86 o en la publicación internacional n.º WO2012/139081.

*Miastenia grave*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar la miastenia grave. La miastenia grave es una enfermedad neuromuscular provocada por la autoinmunidad. Las composiciones de la invención pueden usarse para reducir o prevenir problemas neuromusculares asociados con miastenia grave.

5 *Síndrome de Guillain-Barré*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar el síndrome de Guillain-Barré (GBS). El GBS es una enfermedad autoinmunitaria que implica un ataque autoinmunitario del sistema nervioso periférico. Las composiciones de la invención pueden usarse para reducir o prevenir problemas nerviosos periféricos asociados con GBS.

*Indicaciones vasculares*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar indicaciones vasculares que afectan a los vasos sanguíneos (por ejemplo, arterias, venas y capilares). Tales indicaciones pueden afectar a la circulación sanguínea, la tensión arterial, el flujo sanguíneo, la función del órgano y/u otras funciones corporales.

20 *Microangiopatía trombótica (TMA)*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar y/o prevenir la microangiopatía trombótica (TMA) y enfermedades asociadas. Las microangiopatías afectan los vasos sanguíneos pequeños (capilares) del cuerpo, lo que hace que las paredes de los capilares se vuelvan gruesas, débiles y propensas a sangrar y disminuir la circulación sanguínea. Las TMA tienden a conducir al desarrollo de trombos vasculares, daño de células endoteliales, trombocitopenia y hemólisis. Órganos tales como el cerebro, los riñones, los músculos, el sistema gastrointestinal, la piel y los pulmones pueden verse afectados. Las TMA pueden surgir de operaciones médicas y/o estados que incluyen, pero no se limitan a, trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH), trastornos renales, diabetes y/u otros estados. Las TMA pueden estar provocadas por una disfunción subyacente del sistema del complemento, tal como describen Meri *et al.* en *European Journal of Internal Medicine*, 2013, 24: 496-502. En general, las TMA pueden resultar del aumento de los niveles de determinados componentes del complemento que conducen a trombosis. En algunos casos, esto puede estar provocado por mutaciones en proteínas del complemento o enzimas relacionadas. La disfunción del complemento resultante puede conducir al direccionamiento del complemento de células endoteliales y plaquetas, lo que conduce a trombosis aumentada. En algunas realizaciones, las TMA pueden prevenirse y/o tratarse con composiciones de la invención. En algunos casos, los métodos de tratamiento de TMA con composiciones de la invención pueden llevarse a cabo según los descritos en las publicaciones estadounidenses n.ºs US2012/0225056 o US2013/0246083.

*Coagulación intravascular diseminada (DIC)*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar la coagulación intravascular diseminada (DIC) controlando la activación del complemento. La DIC es un estado patológico en el que la cascada de coagulación en la sangre se activa ampliamente y da como resultado la formación de coágulos sanguíneos, especialmente en los capilares. La DIC puede conducir a un flujo sanguíneo obstruido de tejidos y eventualmente dañar los órganos. Además, la DIC afecta al proceso normal de coagulación de la sangre que puede provocar sangrados graves. Las composiciones de la invención pueden usarse para tratar, prevenir o reducir la gravedad de la DIC modulando la actividad del complemento. En algunos casos, las composiciones de la invención pueden usarse según cualquiera de los métodos de tratamiento de DIC enseñados en la patente estadounidense n.º 8.652.477.

50 *Vasculitis*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar la vasculitis. En general, la vasculitis es un trastorno relacionado con la inflamación de los vasos sanguíneos, incluyendo venas y arterias, que se caracteriza porque los glóbulos blancos atacan los tejidos y provocan inflamación de los vasos sanguíneos. La vasculitis puede asociarse con una infección, tal como la fiebre maculosa de las Montañas Rocosas o la autoinmunidad. Un ejemplo de vasculitis asociada a autoinmunidad es la vasculitis por autoanticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA). La vasculitis por ANCA está provocada por anticuerpos anómalos que atacan las propias células y tejidos del cuerpo. Los ANCA atacan el citoplasma de determinados glóbulos blancos y neutrófilos, provocando que ataquen las paredes de los vasos en determinados órganos y tejidos del cuerpo. La vasculitis por ANCA puede afectar a la piel, los pulmones, los ojos y/o los riñones. Los estudios sugieren que la enfermedad por ANCA activa una ruta alternativa del complemento y genera determinados componentes del complemento que crean un circuito de amplificación de la inflamación que da como resultado una lesión vascular (Jennette *et al.* 2013, *Semin Nephrol.* 33 (6): 557-64) En algunos casos, las composiciones de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar la vasculitis por ANCA inhibiendo la activación del complemento.

65 *Síndrome urémico hemolítico atípico*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden ser útiles para el tratamiento del síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS). El aHUS es una enfermedad poco frecuente provocada por la activación no controlada del complemento caracterizada por la formación de coágulos sanguíneos en vasos sanguíneos pequeños. Las composiciones de la invención pueden ser útiles para reducir o prevenir la activación del complemento asociada con aHUS.

*Indicaciones neurológicas*

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir, tratar y/o aliviar los síntomas de indicaciones neurológicas, que incluyen, pero no se limitan a, enfermedades neurodegenerativas y trastornos relacionados. La neurodegeneración se relaciona generalmente con una pérdida de estructura o función de las neuronas, incluyendo muerte de las neuronas. Estos trastornos pueden tratarse inhibiendo el efecto del complemento sobre las células neuronales usando composiciones de la invención. Los trastornos relacionados con la neurodegeneración incluyen, entre otros, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), esclerosis múltiple (EM), enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer.

*Esclerosis lateral amiotrófica (ELA)*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir, tratar y/o aliviar los síntomas de ELA. La ELA es una enfermedad mortal de las neuronas motoras caracterizada por la degeneración de las neuronas de la médula espinal, el cerebro y la corteza motora. La ELA provoca la pérdida de la fuerza muscular que conduce finalmente a una insuficiencia respiratoria. La disfunción del complemento puede contribuir a la ELA y, por tanto, la ELA puede prevenirse, tratarse y/o los síntomas pueden reducirse mediante terapia con composiciones de la invención que seleccionan como diana a la actividad del complemento. En algunos casos, las composiciones de la invención pueden usarse para promover la regeneración nerviosa. En algunos casos, las composiciones de la invención pueden usarse como inhibidores del complemento según cualquiera de los métodos enseñados en la publicación estadounidense n.º US2014/0234275 o US2010/0143344.

*Enfermedad de Alzheimer*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar la enfermedad de Alzheimer controlando la actividad del complemento. La enfermedad de Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa crónica con síntomas que pueden incluir desorientación, pérdida de memoria, cambios de humor, problemas de comportamiento y eventualmente pérdida de las funciones corporales. Se cree que la enfermedad de Alzheimer está provocada por depósitos cerebrales extracelulares de amiloide que están asociados con proteínas relacionadas con la inflamación, tales como proteínas del complemento (Sjoberg *et al.* 2009. Trends in Immunology. 30 (2): 83-90) En algunos casos, las composiciones de la invención pueden usarse como inhibidores del complemento según cualquiera de los métodos de tratamiento de enfermedad de Alzheimer enseñados en la publicación estadounidense n.º US2014/0234275.

*Indicaciones relacionadas con el riñón*

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar determinadas enfermedades, trastornos y/o estados relacionados con los riñones, en algunos casos inhibiendo la actividad del complemento. Los riñones son órganos responsables de eliminar los productos de desecho metabólicos del torrente sanguíneo. Los riñones regulan la tensión arterial, el aparato urinario y las funciones homeostáticas y, por tanto, son esenciales para una variedad de funciones corporales. Los riñones pueden verse más gravemente afectados por la inflamación (en comparación con otros órganos) debido a las características estructurales únicas y la exposición a la sangre. Los riñones también producen sus propias proteínas del complemento que pueden activarse tras una infección, enfermedad renal y trasplantes renales. En algunos casos, las composiciones de la invención pueden usarse como inhibidores del complemento en el tratamiento de determinadas enfermedades, estados y/o trastornos del riñón según los métodos enseñados por Quigg, J Immunol 2003; 171: 3319-24.

*Nefritis lúpica*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar la nefritis lúpica inhibiendo la actividad del complemento. La nefritis lúpica es una inflamación renal provocada por una enfermedad autoinmunitaria denominada lupus eritematoso sistémico (LES). Los síntomas de la nefritis lúpica incluyen tensión arterial alta; orina espumosa; hinchazón de las piernas, los pies, las manos o la cara; dolor en las articulaciones; dolor muscular; fiebre; y erupción cutánea La nefritis lúpica puede tratarse mediante inhibidores que controlan la actividad del complemento, incluyendo composiciones de la presente invención. Los métodos y las composiciones para prevenir y/o tratar la nefritis lúpica mediante la inhibición del complemento pueden incluir cualquiera de los que se enseñan en la publicación estadounidense n.º US2013/0345257 o la patente estadounidense n.º 8.377.437.

*Glomerulonefritis membranosa (MGN)*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar el trastorno de glomerulonefritis membranosa (MGN) inhibiendo la activación de determinados componentes del complemento. La MGN es un trastorno del riñón que puede provocar inflamación y cambios estructurales. La MGN está provocada por anticuerpos que se unen a un antígeno soluble en los capilares renales (glomérulo). La MGN puede afectar a las funciones renales, tales como filtrado de líquidos, y puede conducir a insuficiencia renal. Las composiciones de la invención pueden usarse según métodos de prevención y/o tratamiento de MGN mediante la inhibición del complemento enseñados en la publicación estadounidense n.º US2010/0015139 o en la publicación internacional n.º WO2000/021559.

*Complicaciones de la hemodiálisis*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar complicaciones asociadas con la hemodiálisis inhibiendo la activación del complemento. La hemodiálisis es un procedimiento médico usado para mantener la función renal en sujetos con insuficiencia renal. En la hemodiálisis, la eliminación de productos de desecho tales como creatinina, urea y agua libre de la sangre se realiza externamente. Una complicación común del tratamiento de hemodiálisis es la inflamación crónica provocada por el contacto entre la sangre y la membrana de diálisis. Otra complicación común es la trombosis, que se refiere a la formación de coágulos sanguíneos que obstruyen la circulación sanguínea. Los estudios han sugerido que estas complicaciones están relacionadas con la activación del complemento. La hemodiálisis puede combinarse con terapia con inhibidores del complemento para proporcionar medios para controlar las respuestas y patologías inflamatorias y/o prevenir o tratar la trombosis en sujetos que se someten a hemodiálisis debido a insuficiencia renal. Los métodos de uso de composiciones de la invención para el tratamiento de complicaciones de hemodiálisis pueden llevarse a cabo según cualquiera de los métodos enseñados por DeAngelis *et al* en *Immunobiology*, 2012, 217 (11): 1097-1105 o por Kourtzelis *et al*. *Blood*, 2010, 116 (4): 631-639.

*Enfermedades oculares*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar determinadas enfermedades, trastornos y/o estados relacionados con los ojos. En un ojo sano, el sistema del complemento se activa a un nivel bajo y está continuamente regulado por proteínas intraoculares solubles y unidas a la membrana que protegen contra los patógenos. Por tanto, la activación del complemento desempeña un papel importante en varias complicaciones relacionadas con el ojo y el control de la activación del complemento puede usarse para tratar tales enfermedades. Las composiciones de la invención pueden usarse como inhibidores del complemento en el tratamiento de enfermedad ocular según cualquiera de los métodos enseñados por Jha *et al*. en *Mol Immunol*. 2007; 44 (16): 3901-3908 o en la patente estadounidense n.º 8.753.625.

*Degeneración macular relacionada con la edad (AMD)*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar la degeneración macular relacionada con la edad (AMD) inhibiendo la activación del complemento ocular. La AMD es una enfermedad ocular crónica que provoca visión central borrosa, puntos ciegos en la visión central y/o pérdida eventual de la visión central. La visión central afecta a la capacidad de leer, conducir un vehículo y/o reconocer caras. La AMD se divide generalmente en dos tipos, no exudativa (seca) y exudativa (húmeda). La AMD seca se refiere al deterioro de la mácula, que es el tejido en el centro de la retina. La AMD húmeda se refiere al fallo de los vasos sanguíneos debajo de la retina que conduce a la fuga de sangre y líquido. Varios estudios en humanos y animales han identificado proteínas del complemento que están relacionadas con la AMD y las estrategias terapéuticas novedosas incluyeron el control de las rutas de activación del complemento, tal como comentan Jha *et al*. en *Mol Immunol*. 2007; 44 (16): 3901-8. Los métodos que implican el uso de composiciones de la invención para la prevención y/o el tratamiento de la AMD pueden incluir cualquiera de los que se enseñan en las publicaciones estadounidenses n.ºs US2011/0269807 o US2008/0269318.

*Enfermedad corneal*

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar enfermedades corneales inhibiendo la activación del complemento ocular. El sistema del complemento desempeña un papel importante en la protección de la córnea de partículas patógenas y/o antígenos inflamatorios. La córnea es la parte frontal más externa del ojo que cubre y protege el iris, la pupila y la cámara anterior y, por tanto, está expuesta a factores externos. Las enfermedades corneales incluyen, pero no se limitan a, queratocono, queratitis, herpes ocular y/u otras enfermedades. Las complicaciones corneales pueden provocar dolor, visión borrosa, lagrimeo, enrojecimiento, sensibilidad a la luz y/o cicatrización corneal. El sistema del complemento es crítico para la protección corneal, pero la activación del complemento puede provocar daño al tejido corneal después de que se elimine una infección, ya que determinados compuestos del complemento se expresan fuertemente. Los métodos para modular la actividad del complemento en el tratamiento de enfermedad corneal pueden incluir cualquiera de los enseñados por Jha *et al*. en *Mol Immunol*. 2007; 44 (16): 3901-8.

*Uveítis autoinmunitaria*

5 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar la uveítis, que es una inflamación de la capa uveal del ojo. La úvea es el área pigmentada del ojo que comprende las coroides, el iris y el cuerpo ciliar del ojo. La uveítis provoca enrojecimiento, visión borrosa, dolor, sinequias y eventualmente puede provocar ceguera. Los estudios han indicado que los productos de activación del complemento están presentes en los ojos de pacientes con uveítis autoinmunitaria y el complemento desempeña un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. En algunos casos, las composiciones de la invención pueden usarse para tratar y/o prevenir la uveítis según cualquiera de los métodos identificados en Jha *et al.* en Mol Immunol. 2007. 44 (16): 3901-8.

*Retinopatía diabética*

15 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar la retinopatía diabética, que es una enfermedad provocada por cambios en los vasos sanguíneos de la retina en pacientes diabéticos. La retinopatía puede provocar inflamación de los vasos sanguíneos y fuga de líquido y/o crecimiento de vasos sanguíneos anómalos. La retinopatía diabética afecta a la visión y eventualmente puede conducir a ceguera. Los estudios han sugerido que la activación del complemento tiene un papel importante en el desarrollo de retinopatía diabética. En algunos casos, las composiciones de la invención pueden usarse según los métodos de tratamiento de retinopatía diabética descritos en Jha *et al.* Mol Immunol. 2007; 44 (16): 3901-8.

*Neuromielitis óptica (NMO)*

25 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar la neuromielitis óptica (NMO). La NMO es una enfermedad autoinmunitaria que conduce a la destrucción del nervio óptico. Los compuestos y/o métodos de la divulgación pueden usarse para prevenir la destrucción del nervio en sujetos con NMO.

*Síndrome de Sjogren*

30 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar el síndrome de Sjogren. El síndrome de Sjogren es una enfermedad ocular caracterizada por ojos secos que pueden arder y/o picar. Es un trastorno autoinmunitario en el que el sistema inmunitario selecciona como diana las glándulas de los ojos y la boca responsables de hidratar esas regiones. Los compuestos, las composiciones y/o los métodos de la presente divulgación pueden usarse para tratar y/o reducir los síntomas del síndrome de Sjogren.

*Preeclampsia y síndrome HELLP*

40 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para prevenir y/o tratar la preeclampsia y/o síndrome HELLP (abreviatura para las características del síndrome de 1) hemólisis, 2) enzimas hepáticas elevadas y 3) bajo recuento de plaquetas) mediante terapia inhibitoria del complemento. La preeclampsia es un trastorno del embarazo con síntomas que incluyen tensión arterial elevada, hinchazón, dificultad para respirar, disfunción renal, insuficiencia hepática y/o bajo recuento de plaquetas. La preeclampsia se diagnostica generalmente por un alto nivel de proteínas en la orina y tensión arterial alta. El síndrome HELLP es una combinación de hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y condiciones plaquetarias bajas. La hemólisis es una enfermedad que implica la ruptura de los glóbulos rojos que conduce a la liberación de hemoglobina de los glóbulos rojos. Las enzimas hepáticas elevadas pueden indicar un estado hepático inducido por el embarazo. Los niveles bajos de plaquetas conducen a una capacidad de coagulación reducida, provocando peligro de sangrado excesivo. HELLP está asociado con una preeclampsia y trastorno hepático. El síndrome HELLP se produce normalmente durante las últimas etapas del embarazo o después del parto. Normalmente se diagnostica mediante análisis de sangre que indican la presencia de los tres estados que implica. Normalmente, HELLP se trata induciendo el parto.

55 Los estudios sugieren que la activación del complemento se produce durante el síndrome HELLP y la preeclampsia y que determinados componentes del complemento están presentes en niveles aumentados durante HELLP y preeclampsia. Los inhibidores del complemento pueden usarse como agentes terapéuticos para prevenir y/o tratar estos estados. Las composiciones de la invención pueden usarse según métodos de prevención y/o tratamiento de HELLP y preeclampsia enseñados por Heager *et al.* en Obstetrics & Gynecology, 1992, 79 (1): 19-26 o en la publicación internacional n.º WO201/078622.

*Formulaciones*

65 En algunos casos, los compuestos o las composiciones, por ejemplo, composición farmacéutica, de la divulgación se formulan en disoluciones acuosas. En algunos casos, las disoluciones acuosas incluyen además una o más sales y/o uno o más agentes tamponantes. Las sales pueden incluir cloruro de sodio que puede incluirse a concentraciones de desde aproximadamente 0,05 mM hasta aproximadamente 50 mM, desde aproximadamente

1 mM hasta aproximadamente 100 mM, desde aproximadamente 20 mM hasta aproximadamente 200 mM, o desde aproximadamente 50 mM hasta aproximadamente 500 mM. Disoluciones adicionales pueden comprender cloruro de sodio a al menos 500 mM. En algunos casos, las disoluciones acuosas incluyen fosfato de sodio. El fosfato de sodio puede incluirse en disoluciones acuosas a una concentración de desde aproximadamente 0,005 mM hasta aproximadamente 5 mM, desde aproximadamente 0,01 mM hasta aproximadamente 10 mM, desde aproximadamente 0,1 mM hasta aproximadamente 50 mM, desde aproximadamente 1 mM hasta aproximadamente 100 mM, desde aproximadamente 5 mM hasta aproximadamente 150 mM, o de desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 250 mM. En algunos casos, se usan concentraciones de fosfato de sodio de al menos 250 mM.

Las composiciones de la divulgación pueden incluir inhibidores de C5 a una concentración de desde aproximadamente 0,001 mg/ml hasta aproximadamente 0,2 mg/ml, desde aproximadamente 0,01 mg/ml hasta aproximadamente 2 mg/ml, desde aproximadamente 0,1 mg/ml hasta aproximadamente 10 mg/ml, desde aproximadamente 0,5 mg/ml hasta aproximadamente 5 mg/ml, desde aproximadamente 1 mg/ml hasta aproximadamente 20 mg/ml, desde aproximadamente 15 mg/ml hasta aproximadamente 40 mg/ml, desde aproximadamente 25 mg/ml hasta aproximadamente 75 mg/ml, desde aproximadamente 50 mg/ml hasta aproximadamente 200 mg/ml, o de desde aproximadamente 100 mg/ml hasta aproximadamente 400 mg/ml. En algunos casos, las composiciones de la divulgación incluyen inhibidores de C5 a una concentración de al menos 400 mg/ml.

Las composiciones de la divulgación pueden comprender inhibidores de C5 a una concentración de aproximadamente, alrededor de o exactamente cualquiera de los siguientes valores: 0,001 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,01 mg/ml, 2 mg/ml, 0,1 mg/ml, 10 mg/ml, 0,5 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, 20 mg/ml, 15 mg/ml, 40 mg/ml, 25 mg/ml, 75 mg/ml, 50 mg/ml, 200 mg/ml, 100 mg/ml o 400 mg/ml. En algunos casos, las composiciones de la divulgación incluyen inhibidores de C5 a una concentración de al menos 40 mg/ml.

En algunos casos, las composiciones de la divulgación incluyen composiciones acuosas que incluyen al menos agua y un inhibidor de C5 (por ejemplo, un polipéptido cíclico inhibidor de C5). Las composiciones acuosas de inhibidor de C5 de la divulgación pueden incluir además una o más sales y/o uno o más agentes tamponantes. En algunos casos, las composiciones acuosas de la divulgación incluyen agua, un polipéptido cíclico inhibidor de C5, una sal y un agente tamponante.

Las formulaciones acuosas de inhibidor de C5 de la divulgación pueden tener niveles de pH de desde aproximadamente 2,0 hasta aproximadamente 3,0, desde aproximadamente 2,5 hasta aproximadamente 3,5, desde aproximadamente 3,0 hasta aproximadamente 4,0, desde aproximadamente 3,5 hasta aproximadamente 4,5, desde aproximadamente 4,0 hasta aproximadamente 5,0, desde aproximadamente 4,5 hasta aproximadamente 5,5, desde aproximadamente 5,0 hasta aproximadamente 6,0, desde aproximadamente 5,5 hasta aproximadamente 6,5, desde aproximadamente 6,0 hasta aproximadamente 7,0, desde aproximadamente 6,5 hasta aproximadamente 7,5, desde aproximadamente 7,0 hasta aproximadamente 8,0, desde aproximadamente 7,5 hasta aproximadamente 8,5, desde aproximadamente 8,0 hasta aproximadamente 9,0, desde aproximadamente 8,5 hasta aproximadamente 9,5, o desde aproximadamente 9,0 hasta aproximadamente 10,0. En algunos casos, los compuestos y las composiciones de la divulgación se preparan según buenas prácticas de fabricación (BPF) y/o las BPF actuales (BPFa). Las pautas usadas para implementar BPF y/o BPFa pueden obtenerse de una o más de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Conferencia Internacional sobre Armonización (ICH).

#### *Dosificación y administración*

Para el tratamiento de sujetos humanos, pueden formularse inhibidores de C5 como composiciones farmacéuticas. Dependiendo del sujeto que va a tratarse, el modo de administración y el tipo de tratamiento deseado (por ejemplo, prevención, profilaxis o terapia), pueden formularse inhibidores de C5 de manera acorde con estos parámetros. Un resumen de tales técnicas se encuentra en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª edición, Lippincott Williams & Wilkins, (2005); y Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick y J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, Nueva York.

Los inhibidores de C5 de la presente divulgación pueden proporcionarse en una cantidad terapéuticamente eficaz. En algunos casos, puede lograrse una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de C5 de la divulgación mediante la administración de una dosis de desde aproximadamente 0,1 mg hasta aproximadamente 1 mg, desde aproximadamente 0,5 mg hasta aproximadamente 5 mg, desde aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 20 mg, desde aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 50 mg, desde aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 100 mg, desde aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 200 mg, o al menos 200 mg de uno o más inhibidores de C5.

En algunos casos, a los sujetos se les puede administrar una cantidad terapéutica de un inhibidor de C5 basándose en el peso de tales sujetos. En algunos casos, los inhibidores de C5 se administran a una dosis de desde aproximadamente 0,001 mg/kg hasta aproximadamente 1,0 mg/kg, desde aproximadamente 0,01 mg/kg hasta

aproximadamente 2,0 mg/kg, desde aproximadamente 0,05 mg/kg hasta aproximadamente 5,0 mg/kg, desde aproximadamente 0,03 mg/kg hasta aproximadamente 3,0 mg/kg, desde aproximadamente 0,01 mg/kg hasta aproximadamente 10 mg/kg, desde aproximadamente 0,1 mg/kg hasta aproximadamente 2,0 mg/kg, desde aproximadamente 0,2 mg/kg hasta aproximadamente 3,0 mg/kg, desde aproximadamente 0,4 mg/kg hasta aproximadamente 4,0 mg/kg, desde aproximadamente 1,0 mg/kg hasta aproximadamente 5,0 mg/kg, desde aproximadamente 2,0 mg/kg hasta aproximadamente 4,0 mg/kg, desde aproximadamente 1,5 mg/kg hasta aproximadamente 7,5 mg/kg, desde aproximadamente 5,0 mg/kg hasta aproximadamente 15 mg/kg, desde aproximadamente 7,5 mg/kg hasta aproximadamente 12,5 mg/kg, desde aproximadamente 10 mg/kg hasta aproximadamente 20 mg/kg, desde aproximadamente 15 mg/kg hasta aproximadamente 30 mg/kg, desde aproximadamente 20 mg/kg hasta aproximadamente 40 mg/kg, desde aproximadamente 30 mg/kg hasta aproximadamente 60 mg/kg, desde aproximadamente 40 mg/kg hasta aproximadamente 80 mg/kg, desde aproximadamente 50 mg/kg hasta aproximadamente 100 mg/kg, o al menos 100 mg/kg. Tales intervalos pueden incluir intervalos adecuados para la administración a sujetos humanos. Los niveles de dosificación pueden ser altamente dependientes de la naturaleza del estado; la eficacia del fármaco; el estado del paciente; el juicio del médico; y la frecuencia y el modo de administración.

En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación se proporcionan a concentraciones ajustadas para alcanzar un nivel deseado del inhibidor de C5 en una muestra, un sistema biológico o un sujeto (por ejemplo, nivel plasmático en un sujeto). En algunos casos, las concentraciones deseadas de inhibidores de C5 en una muestra, un sistema biológico o un sujeto pueden incluir concentraciones de desde aproximadamente 0,001  $\mu\text{M}$  hasta aproximadamente 0,01  $\mu\text{M}$ , desde aproximadamente 0,005  $\mu\text{M}$  hasta aproximadamente 0,05  $\mu\text{M}$ , desde aproximadamente 0,02  $\mu\text{M}$  hasta aproximadamente 0,2  $\mu\text{M}$ , desde aproximadamente 0,03  $\mu\text{M}$  hasta aproximadamente 0,3  $\mu\text{M}$ , desde aproximadamente 0,05  $\mu\text{M}$  hasta aproximadamente 0,5  $\mu\text{M}$ , desde aproximadamente 0,01  $\mu\text{M}$  hasta aproximadamente 2,0  $\mu\text{M}$ , desde aproximadamente 0,1  $\mu\text{M}$  hasta aproximadamente 50  $\mu\text{M}$ , desde aproximadamente 0,1  $\mu\text{M}$  hasta aproximadamente 10  $\mu\text{M}$ , desde aproximadamente 0,1  $\mu\text{M}$  hasta aproximadamente 5  $\mu\text{M}$ , o de desde aproximadamente 0,2  $\mu\text{M}$  hasta aproximadamente 20  $\mu\text{M}$ . En algunos casos, las concentraciones deseadas de inhibidores de C5 en el plasma del sujeto pueden ser de desde aproximadamente 0,1  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 1000  $\mu\text{g/ml}$ . En otros casos, las concentraciones deseadas de inhibidores de C5 en el plasma del sujeto pueden ser de desde aproximadamente 0,01  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 2  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 0,02  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 4  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 0,05  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 5  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 0,1  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 1,0  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 0,2  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 2,0  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 0,5  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 5  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 1  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 5  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 2  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 10  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 3  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 9  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 5  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 20  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 10  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 40  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 30  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 60  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 40  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 80  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 50  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 100  $\mu\text{g/ml}$ , desde aproximadamente 75  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 150  $\mu\text{g/ml}$ , o al menos 150  $\mu\text{g/ml}$ . En otros casos, los inhibidores de C5 se administran a una dosis suficiente para lograr una concentración sérica máxima ( $C_{\text{máx}}$ ) de al menos 0,1  $\mu\text{g/ml}$ , al menos 0,5  $\mu\text{g/ml}$ , al menos 1  $\mu\text{g/ml}$ , al menos 5  $\mu\text{g/ml}$ , al menos 10  $\mu\text{g/ml}$ , al menos 50  $\mu\text{g/ml}$ , al menos 100  $\mu\text{g/ml}$ , o al menos 1000  $\mu\text{g/ml}$ .

En algunos casos, se proporcionan dosis suficientes para mantener niveles de inhibidor de C5 de desde aproximadamente 0,1  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 20  $\mu\text{g/ml}$  para reducir la hemólisis en un sujeto en desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 99%.

En algunos casos, los inhibidores de C5 se administran diariamente a una dosis suficiente para administrar desde aproximadamente 0,1 mg/día hasta aproximadamente 60 mg/día por kg de peso de un sujeto. En algunos casos, la  $C_{\text{máx}}$  lograda con cada dosis es desde aproximadamente 0,1  $\mu\text{g/ml}$  hasta aproximadamente 1000  $\mu\text{g/ml}$ . En tales casos, el área bajo la curva (AUC) entre dosis puede ser de desde aproximadamente 200  $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$  hasta aproximadamente 10.000  $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ .

Según algunos métodos de la divulgación, los inhibidores de C5 de la divulgación se proporcionan a las concentraciones necesarias para lograr un efecto deseado. En algunos casos, los compuestos y las composiciones de la divulgación se proporcionan en una cantidad necesaria para reducir una reacción o un proceso dado a la mitad. La concentración necesaria para lograr tal reducción se denomina en el presente documento concentración inhibitoria semimáxima o " $\text{CI}_{50}$ ". Alternativamente, los compuestos y las composiciones de la divulgación pueden proporcionarse en una cantidad necesaria para aumentar una reacción, una actividad o un proceso dados a la mitad. La concentración necesaria para tal aumento se denomina en el presente documento concentración efectiva media máxima o " $\text{CE}_{50}$ ".

Los inhibidores de C5 de la divulgación pueden estar presentes en cantidades que suman el 0,1-95% en peso del peso total de la composición. En algunos casos, los inhibidores de C5 se administran por vía intravenosa (i.v.). En

algunos casos, los inhibidores de C5 se proporcionan mediante administración subcutánea (s.c.).

La administración s.c. de inhibidores de C5 de la divulgación puede, en algunos casos, proporcionar ventajas sobre la administración i.v. La administración s.c. puede permitir a los pacientes proporcionarse tratamiento a sí mismos en su propio hogar, evitando la necesidad de desplazarse hasta un profesional sanitario o centro médico. Además, el tratamiento s.c. puede permitir a los pacientes evitar complicaciones a largo plazo asociadas con la administración i.v., tales como infecciones, pérdida de acceso venoso, trombosis local y hematomas. En algunos casos, el tratamiento s.c. puede aumentar el cumplimiento del paciente, la satisfacción del paciente, la calidad de vida, reducir los costes del tratamiento y/o los requisitos de los fármacos.

En algunos casos, la administración s.c. diaria proporciona concentraciones de inhibidor de C5 en estado estacionario que se alcanzan dentro de 1-3 dosis, 2-3 dosis, 3-5 dosis o 5-10 dosis. En algunos casos, las dosis s.c. diarias de 0,1 mg/kg pueden alcanzar niveles sostenidos de inhibidor de C5 mayores o iguales a 2,5 µg/ml y/o una inhibición de la actividad del complemento mayor del 90%.

Los inhibidores de C5 de la divulgación pueden presentar una cinética de absorción lenta (tiempo hasta la concentración máxima observada de más de 4-8 horas) y una alta biodisponibilidad (de aproximadamente el 75% hasta aproximadamente el 100%) después de la administración s.c.

En algunos casos, la dosificación y/o administración se alteran para modular la semivida ( $t_{1/2}$ ) de los niveles de inhibidor de C5 en un sujeto o en líquidos del sujeto (por ejemplo, plasma). En algunos casos, la  $t_{1/2}$  es de al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 4 horas, al menos 6 horas, al menos 8 horas, al menos 10 horas, al menos 12 horas, al menos 16 horas, al menos 20 horas, al menos 24 horas, al menos 36 horas, al menos 48 horas, al menos 60 horas, al menos 72 horas, al menos 96 horas, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 7 días, al menos 8 días, al menos 9 días, al menos 10 días, al menos 11 días, al menos 12 días, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 4 semanas, al menos 5 semanas, al menos 6 semanas, al menos 7 semanas, al menos 8 semanas, al menos 9 semanas, al menos 10 semanas, al menos 11 semanas, al menos 12 semanas, o al menos 16 semanas.

En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación pueden presentar una  $t_{1/2}$  terminal larga. La  $t_{1/2}$  terminal prolongada puede deberse a una extensa unión a la diana y/o unión adicional a proteínas plasmáticas. En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación presentan valores de  $t_{1/2}$  superiores a 24 horas tanto en plasma como en sangre completa. En algunos casos, los inhibidores de C5 no pierden actividad funcional después de la incubación en sangre completa humana a 37°C durante 16 horas.

En algunos casos, la dosificación y/o administración se alteran para modular el volumen de distribución en estado estacionario de los inhibidores de C5. En algunos casos, el volumen de distribución en estado estacionario de los inhibidores de C5 es de desde aproximadamente 0,1 ml/kg hasta aproximadamente 1 ml/kg, desde aproximadamente 0,5 ml/kg hasta aproximadamente 5 ml/kg, desde aproximadamente 1 ml/kg hasta aproximadamente 10 ml/kg, desde aproximadamente 5 ml/kg hasta aproximadamente 20 ml/kg, desde aproximadamente 15 ml/kg hasta aproximadamente 30 ml/kg, desde aproximadamente 10 ml/kg hasta aproximadamente 200 ml/kg, desde aproximadamente 20 ml/kg hasta aproximadamente 60 ml/kg, desde aproximadamente 30 ml/kg hasta aproximadamente 70 ml/kg, desde aproximadamente 50 ml/kg hasta aproximadamente 200 ml/kg, desde aproximadamente 100 ml/kg hasta aproximadamente 500 ml/kg, o al menos 500 ml/kg. En algunos casos, la dosificación y/o administración de inhibidores de C5 se ajusta para garantizar que el volumen de distribución en estado estacionario sea igual a al menos el 50% del volumen total de sangre. En algunos casos, la distribución del inhibidor de C5 puede estar restringida al compartimento plasmático.

En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación presentan una tasa de aclaramiento total de desde aproximadamente 0,001 ml/h/kg hasta aproximadamente 0,01 ml/h/kg, desde aproximadamente 0,005 ml/h/kg hasta aproximadamente 0,05 ml/h/kg, desde aproximadamente 0,01 ml/h/kg hasta aproximadamente 0,1 ml/h/kg, desde aproximadamente 0,05 ml/h/kg hasta aproximadamente 0,5 ml/h/kg, desde aproximadamente 0,1 ml/h/kg hasta aproximadamente 1 ml/h/kg, desde aproximadamente 0,5 ml/h/kg hasta aproximadamente 5 ml/h/kg, desde aproximadamente 0,04 ml/h/kg hasta aproximadamente 4 ml/h/kg, desde aproximadamente 1 ml/h/kg hasta aproximadamente 10 ml/h/kg, desde aproximadamente 5 ml/h/kg hasta aproximadamente 20 ml/h/kg, desde aproximadamente 15 ml/h/kg hasta aproximadamente 30 ml/h/kg, o al menos 30 ml/h/kg.

Los periodos de tiempo durante los cuales se mantiene la concentración máxima de inhibidores de C5 en sujetos (por ejemplo, en suero del sujeto) (valores de  $T_{máx}$ ) pueden ajustarse alterando la dosificación y/o administración (por ejemplo, administración subcutánea). En algunos casos, los inhibidores de C5 tienen valores de  $T_{máx}$  de desde aproximadamente 1 min hasta aproximadamente 10 min, desde aproximadamente 5 min hasta aproximadamente 20 min, desde aproximadamente 15 min hasta aproximadamente 45 min, desde aproximadamente 30 min hasta aproximadamente 60 min, desde aproximadamente 45 min hasta aproximadamente 90 min, desde aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 48 horas, desde aproximadamente 2 horas hasta aproximadamente 10 horas, desde aproximadamente 5 horas hasta aproximadamente 20 horas, desde

aproximadamente 10 horas hasta aproximadamente 60 horas, desde aproximadamente 1 día hasta aproximadamente 4 días, desde aproximadamente 2 días hasta aproximadamente 10 días, o al menos 10 días.

5 En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación pueden administrarse sin efectos fuera de la diana. En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación no inhiben hERG (homólogo humano “éter a gogó”), incluso con concentraciones menores de o iguales a 300  $\mu\text{M}$ . La inyección s.c. de inhibidores de C5 de la divulgación con niveles de dosis de hasta 10 mg/kg puede tolerarse bien y no dar como resultado ningún efecto adverso del aparato cardiovascular (por ejemplo, riesgo elevado de repolarización ventricular prolongada) y/o del aparato respiratorio.

10 Las dosis de inhibidor de C5 pueden determinarse usando el nivel de efecto adverso no observado (NOAEL) observado en otras especies. Tales especies pueden incluir, pero no se limitan a, monos, ratas, conejos y ratones. En algunos casos, las dosis equivalentes en humanos (HED) pueden determinarse mediante escala alométrica de NOAEL observados en otras especies. En algunos casos, las HED producen márgenes terapéuticos de desde aproximadamente 2 veces hasta aproximadamente 5 veces, desde aproximadamente 4 veces hasta  
15 aproximadamente 12 veces, desde aproximadamente 5 veces hasta aproximadamente 15 veces, desde aproximadamente 10 veces hasta aproximadamente 30 veces, o al menos 30 veces. En algunos casos, los márgenes terapéuticos se determinan mediante el uso de exposición en primates y niveles de  $C_{\text{máx}}$  humana en humanos.

20 En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación permiten un periodo de lavado rápido en casos de infección en los que la inhibición prolongada del sistema del complemento resulta perjudicial.

25 La administración de inhibidor de C5 según la divulgación puede modificarse para reducir los posibles riesgos clínicos para los sujetos. La infección por *Neisseria meningitidis* es un riesgo conocido de los inhibidores de C5, incluyendo eculizumab. En algunos casos, el riesgo de infección por *Neisseria meningitidis* se minimiza instituyendo una o más etapas profilácticas. Tales etapas pueden incluir la exclusión de sujetos que pueden estar ya colonizados por estas bacterias. En algunos casos, las etapas profilácticas pueden incluir la administración conjunta con uno o más antibióticos. En algunos casos, puede administrarse conjuntamente ciprofloxacina. En algunos casos, puede  
30 administrarse conjuntamente ciprofloxacina por vía oral a una dosis de desde aproximadamente 100 mg hasta aproximadamente 1000 mg (por ejemplo, 500 mg).

En algunos casos, la administración del inhibidor de C5 puede llevarse a cabo usando un dispositivo autoinyector. Tales dispositivos pueden permitir la autoadministración (por ejemplo, administración diaria).

### 35 *Frecuencia de dosificación*

En algunos casos, los inhibidores de C5 de la divulgación se administran a una frecuencia de cada hora, cada 2 horas, cada 4 horas, cada 6 horas, cada 12 horas, cada 18 horas, cada 24 horas, cada 36 horas, cada 72 horas, cada 84 horas, cada 96 horas, cada 5 días, cada 7 días, cada 10 días, cada 14 días, cada semana, cada dos  
40 semanas, cada 3 semanas, cada 4 semanas, cada mes, cada 2 meses, cada 3 meses, cada 4 meses, cada 5 meses, cada 6 meses, cada año, o al menos cada año. En algunos casos, los inhibidores de C5 se administran una vez al día o como dos, tres o más subdosis a intervalos apropiados durante el día.

45 En algunos casos, los inhibidores de C5 se administran en múltiples dosis diarias. En algunos casos, los inhibidores de C5 se administran diariamente durante 7 días. En algunos casos, los inhibidores de C5 se administran diariamente durante de 7 a 100 días. En algunos casos, los inhibidores de C5 se administran diariamente durante al menos 100 días. En algunos casos, los inhibidores de C5 se administran diariamente durante un periodo indefinido.

50 Los inhibidores de C5 administrados por vía intravenosa pueden administrarse por infusión durante un periodo de tiempo, tal como durante un periodo de 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos o 25 minutos. La administración puede repetirse, por ejemplo, de forma regular, tal como cada hora, diariamente, semanalmente, quincenalmente (es decir, cada dos semanas), durante un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses o más de cuatro meses. Después de un régimen de tratamiento inicial, los tratamientos pueden administrarse con menos frecuencia. Por ejemplo, después de la administración quincenal durante tres meses, la administración puede  
55 repetirse una vez al mes, durante seis meses o un año o más. La administración del inhibidor de C5 puede reducir, disminuir, aumentar o alterar la unión o cualquier proceso fisiológicamente perjudicial (por ejemplo, en una célula, un tejido, sangre, orina u otro compartimento de un paciente) en al menos el 10%, al menos el 15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 40%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80% o al menos el 90% o más.

60 Antes de la administración de una dosis completa del inhibidor de C5 y/o la composición del inhibidor de C5, a los pacientes se les puede administrar una dosis más pequeña, tal como el 5% de una dosis completa, y monitorizar sus efectos adversos, tal como una reacción alérgica o reacción a la infusión, o para niveles elevados de lípidos o tensión arterial. En otro ejemplo, al paciente se le puede monitorizar para detectar efectos inmunoestimulantes no  
65 deseados, tales como el aumento de los niveles de citocinas (por ejemplo, TNF-alfa, IL-1, IL-6 o IL-10).

La predisposición genética desempeña un papel en el desarrollo de algunas enfermedades o trastornos. Por tanto, un paciente que necesita un inhibidor de C5 puede identificarse tomando los antecedentes familiares o, por ejemplo, seleccionando una o más variantes o marcadores genéticos. Un profesional sanitario, tal como un médico, una enfermera o un miembro de la familia, puede analizar los antecedentes familiares antes de recetar o administrar una composición terapéutica de la presente divulgación.

### III. Kits

Cualquiera de los inhibidores de C5 descritos en el presente documento puede proporcionarse como parte de un kit. En un ejemplo no limitativo, los inhibidores de C5 pueden incluirse en un kit para tratar una enfermedad. El kit puede incluir un vial de polvo de inhibidor de C5 seco y estéril, una disolución estéril para disolver el polvo seco y una jeringa para el equipo de infusión para administrar el inhibidor de C5.

Cuando los inhibidores de C5 se proporcionan como un polvo seco, se contempla que se proporcionen entre 10 microgramos y 1000 miligramos de inhibidor de C5, o al menos o como máximo esas cantidades en kits de la divulgación.

Los kits típicos pueden incluir al menos un vial, tubo de ensayo, matraz, frasco, una jeringa y/u otro recipiente o dispositivo, en el que se colocan las formulaciones de inhibidor de C5, preferiblemente, asignadas de manera adecuada. Los kits también pueden incluir uno o más recipientes secundarios con tampón estéril farmacéuticamente aceptable y/u otro diluyente.

En algunos casos, los compuestos o las composiciones de la divulgación se proporcionan en viales de borosilicato. Tales viales pueden incluir una tapa (por ejemplo, un tapón de caucho). En algunos casos, las tapas incluyen tapones de goma recubiertos con FLUROTEC®. Las tapas pueden fijarse en su lugar con un sello externo, que incluye, pero no se limita a, un sello de aluminio abatible.

Los kits pueden incluir además instrucciones para emplear los componentes del kit, así como el uso de cualquier otro reactivo no incluido en el kit. Las instrucciones pueden incluir variaciones que pueden implementarse.

### IV. Definiciones

**Biodisponibilidad:** tal como se usa en el presente documento, el término “biodisponibilidad” se refiere a la disponibilidad sistémica de una cantidad dada de un compuesto (por ejemplo, inhibidor de C5) administrado a un sujeto. La biodisponibilidad puede evaluarse midiendo el área bajo la curva (AUC) o la concentración sérica o plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ) de la forma inalterada de un compuesto tras la administración del compuesto a un sujeto. El AUC es una determinación del área bajo la curva cuando se representa gráficamente la concentración sérica o plasmática de un compuesto a lo largo de la ordenada (eje Y) frente al tiempo a lo largo de la abscisa (eje X). En general, el AUC para un compuesto particular puede calcularse usando métodos conocidos por los expertos en la técnica y/o tal como se describe en G. S. Banker, *Modern Pharmaceutics, Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, v. 72, Marcel Dekker, Nueva York, Inc., 1996.

**Sistema biológico:** tal como se usa en el presente documento, el término “sistema biológico” se refiere a una célula, un grupo de células, un tejido, un órgano, un grupo de órganos, un orgánulo, un líquido biológico, una ruta de señalización biológica (por ejemplo, una ruta de señalización activada por receptor, una ruta de señalización activada por carga, una ruta metabólica, una ruta de señalización celular, etc.), un grupo de proteínas, un grupo de ácidos nucleicos o un grupo de moléculas (incluyendo, pero no limitadas a, biomoléculas) que portan al menos una función biológica o tarea biológica dentro de membranas celulares, compartimentos celulares, células, cultivos celulares, tejidos, órganos, sistemas de órganos, organismos, organismos multicelulares, líquidos biológicos o cualquier entidad biológica. En algunas realizaciones, los sistemas biológicos son rutas de señalización celular que comprenden biomoléculas de señalización intracelular y/o extracelular. En algunas realizaciones, los sistemas biológicos incluyen cascadas proteolíticas (por ejemplo, la cascada del complemento).

**Agente tamponante:** tal como se usa en el presente documento, el término “agente tamponante” se refiere a un compuesto usado en una disolución con el propósito de resistir cambios en el pH. Tales compuestos pueden incluir, pero no se limitan a, ácido acético, ácido adípico, acetato de sodio, ácido benzoico, ácido cítrico, benzoato de sodio, ácido maleico, fosfato de sodio, ácido tartárico, ácido láctico, metafosfato de potasio, glicina, bicarbonato de sodio, fosfato de potasio, citrato de sodio y tartrato de sodio.

**Tasa de aclaramiento:** tal como se usa en el presente documento, el término “tasa de aclaramiento” se refiere a la velocidad a la que un compuesto particular se elimina de un líquido o sistema biológico.

**Compuesto:** tal como se usa en el presente documento, el término “compuesto” se refiere a una entidad química distinta. En algunas realizaciones, un compuesto particular puede existir en una o más formas isoméricas o isotópicas (que incluyen, pero no se limitan a, estereoisómeros, isómeros geométricos e isótopos). En algunas realizaciones, se proporciona o utiliza un compuesto en una sola forma de este tipo. En algunas realizaciones, se

proporciona o utiliza un compuesto como una mezcla de dos o más de tales formas (que incluyen, pero no se limitan a, una mezcla racémica de estereoisómeros). Los expertos en la técnica apreciarán que algunos compuestos existen en diferentes formas, muestran diferentes propiedades y/o actividades (que incluyen, pero no se limitan a, actividades biológicas). En tales casos, está dentro de la habilidad ordinaria de los expertos en la técnica seleccionar o evitar formas particulares de un compuesto para su uso según la presente divulgación. Por ejemplo, los compuestos que contienen átomos de carbono sustituidos asimétricamente pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas.

*Cíclico o ciclado*: tal como se usa en el presente documento, el término “cíclico” se refiere a la presencia de un bucle continuo. Las moléculas cíclicas no necesitan ser circulares, sólo estar unidas para formar una cadena ininterrumpida de subunidades. Los polipéptidos cíclicos pueden incluir un “bucle cíclico”, formado cuando dos aminoácidos están conectados por un resto de unión en puente. El bucle cíclico comprende los aminoácidos a lo largo del polipéptido presente entre los aminoácidos unidos en puente. Los bucles cíclicos pueden comprender 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos.

*Acontecimientos posteriores*: tal como se usa en el presente documento, el término “posterior” o “acontecimiento posterior” se refiere a cualquier acontecimiento que se produce después y/o como resultado de otro acontecimiento. En algunos casos, los acontecimientos posteriores son acontecimientos que se producen después y como resultado de la escisión de C5 y/o la activación del complemento. Tales acontecimientos pueden incluir, pero no se limitan a, generación de productos de escisión C5, activación de MAC, hemólisis y enfermedad relacionada con hemólisis (por ejemplo, HPN).

*Constante de disociación de equilibrio*: tal como se usa en el presente documento, el término “constante de disociación de equilibrio” o “ $K_D$ ” se refiere a un valor que representa la tendencia de dos o más agentes (por ejemplo, dos proteínas) a separarse reversiblemente. En algunos casos,  $K_D$  indica una concentración de un agente primario a la que la mitad de los niveles totales de un agente secundario están asociados con el agente primario.

*Semivida*: tal como se usa en el presente documento, el término “semivida” o “ $t_{1/2}$ ” se refiere al tiempo que tarda un proceso determinado o una concentración de compuesto en alcanzar la mitad de un valor final. La “semivida terminal” o “ $t_{1/2}$  terminal” se refiere al tiempo necesario para que la concentración plasmática de un factor se reduzca a la mitad después de que la concentración del factor haya alcanzado un pseudoequilibrio.

*Hemólisis*: tal como se usa en el presente documento, el término “hemólisis” se refiere a la destrucción de los glóbulos rojos.

*Identidad*: tal como se usa en el presente documento, el término “identidad”, cuando se refiere a polipéptidos o ácidos nucleicos, se refiere a una relación comparativa entre secuencias. El término se usa para describir el grado de relación de secuencia entre secuencias poliméricas, y puede incluir el porcentaje de componentes monoméricos coincidentes con alineaciones de espacios (si hubiera) abordados por un modelo matemático o programa informático particular (es decir, “algoritmos”). La identidad de los polipéptidos relacionados puede calcularse fácilmente mediante métodos conocidos. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, los descritos anteriormente por otros (Lesk, A. M., ed., Computational Molecular Biology, Oxford University Press, Nueva York, 1988; Smith, D. W., ed., Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Academic Press, Nueva York, 1993; Griffin, A. M. *et al.*, Ed., Computer Analysis of Sequence Data, parte 1, Humana Press, Nueva Jersey, 1994; von Heinje, G., Sequence Analysis in Molecular Biology, Academic Press, 1987; Gribskov, M. *et al.*, Ed., Sequence Analysis Primer, M. Stockton Press, Nueva York, 1991; y Carillo *et al.*, Applied Math, SIAM J, 1988, 48, 1073).

*Inhibidor*: tal como se usa en el presente documento, el término “inhibidor” se refiere a cualquier agente que bloquea o provoca una reducción en la aparición de un acontecimiento específico; señal celular; ruta química; reacción enzimática; proceso celular; interacción entre dos o más entidades; acontecimiento biológico; enfermedad; trastorno; o estado.

*Intravenoso*: tal como se usa en el presente documento, el término “intravenoso” se refiere al área dentro de un vaso sanguíneo. La administración intravenosa se refiere generalmente a la administración de un compuesto a la sangre a través de la inyección en un vaso sanguíneo (por ejemplo, una vena).

*In vitro*: tal como se usa en el presente documento, el término “*in vitro*” se refiere a acontecimientos que se producen en un entorno artificial (por ejemplo, en un tubo de ensayo o recipiente de reacción, en cultivo celular, en una placa de Petri, etc.), en lugar de dentro de un organismo (por ejemplo, animal, planta o microbio).

*In vivo*: tal como se usa en el presente documento, el término “*in vivo*” se refiere a acontecimientos que se producen dentro de un organismo (por ejemplo, animal, planta o microbio, o célula o tejido del mismo).

*Puente de lactama*: tal como se usa en el presente documento, el término “puente de lactama” se refiere a un enlace amídico que forma un puente entre grupos químicos en una molécula. En algunos casos, se forman puentes de lactama entre aminoácidos en un polipéptido.

*Grupo de unión:* el término “grupo de unión” tal como se usa en el presente documento se refiere a un grupo de átomos (por ejemplo, 10-1.000 átomos), molécula(s) u otros compuestos usados para unir dos o más entidades. Los grupos de unión pueden unir tales entidades mediante interacciones covalentes o no covalentes (por ejemplo, iónicas o hidrófobas). Los grupos de unión pueden incluir cadenas de dos o más unidades de polietilenglicol (PEG). En algunos casos, los grupos de unión pueden ser escindibles.

*Volumen respiratorio por minuto:* tal como se usa en el presente documento, el término “volumen respiratorio por minuto” se refiere al volumen de aire inhalado o exhalado de los pulmones de un sujeto por minuto.

*No proteinógeno:* tal como se usa en el presente documento, el término “no proteinógeno” se refiere a cualquier proteína no natural, tal como las que tienen componentes no naturales, tales como aminoácidos no naturales.

*Paciente:* tal como se usa en el presente documento, “paciente” se refiere a un sujeto que puede buscar o que necesita tratamiento, requiere tratamiento, está recibiendo tratamiento, recibirá tratamiento o un sujeto que está bajo el cuidado de un profesional capacitado para una enfermedad o un estado particular.

*Composición farmacéutica:* tal como se usa en el presente documento, el término “composición farmacéutica” se refiere a una composición que comprende al menos un principio activo (por ejemplo, un inhibidor de C5) en una forma y cantidad que permite que el principio activo sea terapéuticamente eficaz.

*Farmacéuticamente aceptable:* la frase “farmacéuticamente aceptable” se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

*Excipientes farmacéuticamente aceptables:* la frase “excipiente farmacéuticamente aceptable”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier principio distinto de un agente activo (por ejemplo, R5000 o variantes del mismo) presente en una composición farmacéutica y que tenga las propiedades de ser sustancialmente no tóxico y no inflamatorio en un paciente. En algunas realizaciones, un excipiente farmacéuticamente aceptable es un vehículo capaz de suspender o disolver el agente activo. Los excipientes pueden incluir, por ejemplo: antiadherentes, antioxidantes, aglutinantes, recubrimientos, adyuvantes de compresión, disgregantes, tintes (colorantes), emolientes, emulsionantes, cargas (diluyentes), agentes formadores de película o recubrimientos, aromatizantes, fragancias, deslizantes (potenciadores de flujo), lubricantes, conservantes, tintas de impresión, absorbentes, agentes de suspensión o dispersión, edulcorantes y aguas de hidratación. Los excipientes a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a: hidroxitolueno butilado (BHT), carbonato de calcio, fosfato de calcio (dibásico), estearato de calcio, croscarmelosa, polivinilpirrolidona reticulada, ácido cítrico, crospovidona, cisteína, etilcelulosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, lactosa, estearato de magnesio, maltitol, manitol, metionina, metilcelulosa, metilparabeno, celulosa microcristalina, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, povidona, almidón pregelatinizado, propilparabeno, palmitato de retinilo, goma laca, dióxido de silicio, carboximetilcelulosa de sodio, citrato de sodio, glicolato de almidón de sodio, sorbitol, almidón (maíz), ácido esteárico, sacarosa, talco, dióxido de titanio, vitamina A, vitamina E, vitamina C y xilitol.

*Compartimento plasmático:* tal como se usa en el presente documento, el término “compartimento plasmático” se refiere al espacio intravascular ocupado por plasma sanguíneo.

*Sal:* tal como se usa en el presente documento, el término “sal” se refiere a un compuesto constituido por un catión con un anión unido. Tales compuestos pueden incluir cloruro de sodio (NaCl) u otras clases de sales que incluyen, pero no se limitan a, acetatos, cloruros, carbonatos, cianuros, nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos.

*Muestra:* tal como se usa en el presente documento, el término “muestra” se refiere a una alícuota o porción tomada de una fuente y/o proporcionada para su análisis o procesamiento. En algunas realizaciones, una muestra es de una fuente biológica tal como un tejido, una célula o una parte de componente (por ejemplo, un líquido corporal, que incluye, pero no se limita a, sangre, moco, líquido linfático, líquido sinovial, líquido cefalorraquídeo, saliva, líquido amniótico, sangre de cordón amniótico, orina, fluido vaginal y semen). En algunas realizaciones, una muestra puede ser o comprender un homogeneizado, lisado o extracto preparado a partir de un organismo completo o un subconjunto de sus tejidos, células o partes de componente, o una fracción o porción de los mismos, que incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, líquido linfático, las secciones externas de la piel, vías respiratorias, intestinales y genitourinarias, lágrimas, saliva, leche, células sanguíneas, tumores u órganos. En algunas realizaciones, una muestra es o comprende un medio, tal como un caldo o gel de nutrientes, que puede contener componentes celulares, tales como proteínas. En algunas realizaciones, una muestra “primaria” es una alícuota de la fuente. En algunas realizaciones, una muestra primaria se somete a una o más etapas de procesamiento (por ejemplo, separación, purificación, etc.) para preparar una muestra para su análisis u otro uso.

*Subcutáneo:* tal como se usa en el presente documento, el término “subcutáneo” se refiere al espacio por debajo de

la piel. La administración subcutánea es la administración de un compuesto por debajo de la piel.

*Sujeto*: tal como se usa en el presente documento, el término “sujeto” se refiere a cualquier organismo al que se le puede administrar un compuesto según la divulgación, por ejemplo, con fines experimentales, de diagnóstico, profilácticos y/o terapéuticos. Los sujetos típicos incluyen animales (por ejemplo, mamíferos tales como ratones, ratas, conejos, sujetos porcinos, primates no humanos y humanos).

*Sustancialmente*: tal como se usa en el presente documento, el término “sustancialmente” se refiere al estado cualitativo de presentar la extensión o el grado total o casi total de una característica o propiedad de interés. Un experto habitual en las técnicas biológicas comprenderá que los fenómenos químicos y biológicos rara vez, si alguna vez, se finalizan y/o avanzan hasta su finalización o logran o evitan un resultado absoluto. Por tanto, el término “sustancialmente” se usa en el presente documento para capturar la posible falta de integridad inherente a muchos fenómenos biológicos y químicos.

*Cantidad terapéuticamente eficaz*: tal como se usa en el presente documento, el término “cantidad terapéuticamente eficaz” significa una cantidad de un agente que va a administrarse (por ejemplo, inhibidor de C5) que es suficiente, cuando se administra a un sujeto que padece o es susceptible a una enfermedad, un trastorno y/o un estado, para tratar, mejorar los síntomas, diagnosticar, prevenir y/o retrasar la aparición de la enfermedad, el trastorno o el estado.

*Volumen corriente*: tal como se usa en el presente documento, el término “volumen corriente” se refiere al volumen pulmonar normal de aire desplazado entre respiraciones (en ausencia de cualquier esfuerzo adicional).

*T<sub>máx</sub>*: tal como se usa en el presente documento, el término “T<sub>máx</sub>” se refiere al periodo de tiempo durante el cual se mantiene la concentración máxima de un compuesto en un sujeto o líquido.

*Tratar*: tal como se usa en el presente documento, el término “tratar” se refiere a aliviar, mitigar, mejorar, paliar, retrasar el inicio de, inhibir la progresión de, reducir la gravedad de y/o reducir la incidencia parcial o completamente de uno o más síntomas o características de una enfermedad, un trastorno y/o un estado particular. El tratamiento puede administrarse a un sujeto que no presenta signos de una enfermedad, un trastorno y/o un estado y/o a un sujeto que sólo presenta signos tempranos de una enfermedad, un trastorno y/o un estado con el fin de disminuir el riesgo de desarrollar patología asociada con la enfermedad, el trastorno y/o el estado.

*Volumen de distribución*: tal como se usa en el presente documento, el término “volumen de distribución” o “V<sub>dist</sub>” se refiere a un volumen de líquido requerido para contener la cantidad total de un compuesto en el cuerpo a la misma concentración que en la sangre o el plasma. El volumen de distribución puede reflejar el grado en que un compuesto está presente en el tejido extravascular. Un gran volumen de distribución refleja la tendencia de un compuesto a unirse a los componentes del tejido en comparación con componentes de las proteínas plasmáticas. En un entorno clínico, V<sub>dist</sub> puede usarse para determinar una dosis de carga de un compuesto para lograr una concentración en estado estacionario de ese compuesto.

## Ejemplos

### Ejemplo 1. Preparación de disolución acuosa de R5000

Se sintetizaron polipéptidos usando métodos de Fmoc/tBu en fase sólida convencionales. La síntesis se realizó en un sintetizador de péptidos por microondas automatizado Liberty (CEM, Matthews NC) usando protocolos convencionales con resina de amida Rink, aunque también pueden usarse otros sintetizadores automatizados sin capacidad de microondas. Todos los aminoácidos se obtuvieron de fuentes comerciales. El reactivo de acoplamiento usado fue hexafluorofosfato de 2-(6-cloro-1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3,-tetrametilaminio (HCTU) y la base fue diisopropiletilamina (DIEA). Se escindieron los polipéptidos de la resina con el 95% de TFA, el 2,5% de TIS y el 2,5% de agua durante 3 horas y se aislaron mediante precipitación con éter. Se purificaron los polipéptidos en bruto en una HPLC preparativa de fase inversa usando una columna C18, con un gradiente de acetonitrilo/agua con TFA al 0,1% de desde el 20%-50% a lo largo de 30 min. Se recogieron fracciones que contenían polipéptidos puros y se liofilizaron, y se analizaron todos los polipéptidos mediante CL-EM.

Se preparó R5000 (SEQ ID NO: 1) como un péptido cíclico que contenía 15 aminoácidos (4 de los cuales son aminoácidos no naturales), un extremo N-terminal acetilado y un ácido carboxílico en el extremo C-terminal. La lisina C-terminal del péptido central tiene una cadena lateral modificada, que forma un residuo de N-ε-(PEG24-ácido γ-glutámico-N-α-hexadecanoil)lisina. Esta cadena lateral modificada incluye un espaciador de polietilenglicol (PEG24) unido a un residuo de ácido L-γ-glutámico que está derivatizado con un grupo palmitoilo. La ciclación de R5000 es por medio de un puente de lactama entre las cadenas laterales de L-Lys1 y L-Asp6. Todos los aminoácidos en R5000 son L-aminoácidos. R5000 tiene un peso molecular de 3562,23 g/mol y una fórmula química de C<sub>172</sub>H<sub>278</sub>N<sub>24</sub>O<sub>55</sub>.

Al igual que eculizumab, R5000 bloquea la escisión proteolítica de C5 para dar C5a y C5b. A diferencia de

eculizumab, R5000 también puede unirse a C5b y bloquear la unión de C6 lo cual previene el posterior ensamblaje del MAC.

5 Se preparó R5000 como una disolución acuosa para inyección que contenía 40 mg/ml de R5000 en una formulación de fosfato de sodio 50 mM y cloruro de sodio 75,7 mM a un pH de  $7,0 \pm 0,3$ .

#### Ejemplo 2. Administración y almacenamiento de R5000

10 R5000 se administra mediante inyección subcutánea (s.c.) o intravenosa (i.v.) y la dosis administrada (volumen de dosis) se ajusta basándose en el peso del sujeto en una base de mg/kg. Esto se logra usando un conjunto de dosis fijas alineadas a un conjunto de intervalos de peso. En total, la dosificación para humanos admite un amplio intervalo de peso de 43 a 109 kg. Los sujetos que presentan un peso corporal mayor ( $>109$  kg) se ajustan caso por caso, en consulta con un monitor médico.

15 R5000 se almacena a de  $2^{\circ}\text{C}$  a  $8^{\circ}\text{C}$  [de  $36^{\circ}$  a  $46^{\circ}\text{F}$ ]. Una vez se dispensa a los sujetos, R5000 se almacena a temperatura ambiente controlada (de  $20^{\circ}\text{C}$  a  $25^{\circ}\text{C}$  [de  $68^{\circ}\text{F}$  a  $77^{\circ}\text{F}$ ]) durante hasta 30 días, y se protege de fuentes de fluctuaciones excesivas de temperatura tales como calor elevado o exposición a la luz. Preferiblemente, se evita el almacenamiento de R5000 fuera de temperaturas ambiente. R5000 puede almacenarse durante hasta 30 días en estas condiciones.

#### Ejemplo 3. Pruebas de estabilidad

25 Se llevan a cabo pruebas de estabilidad a cabo según la Conferencia Internacional sobre Armonización (ICH) Q1A "Stability of New Drug Sustances and Products". Se mantienen muestras de la disolución acuosa del ejemplo 1 a 3 temperaturas:  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $5^{\circ}\text{C}$  y  $25^{\circ}\text{C}$ . Los intervalos de pruebas son a los 1, 2 y 3 meses, y después de eso cada 3 meses hasta 24 meses. Se someten muestras a prueba para determinar su aspecto (por ejemplo, transparencia, color, presencia de precipitado), pH, osmolalidad, concentración, pureza, actividad objetivo (por ejemplo, mediante ensayo de lisis de RBC), niveles de materiales particulados, niveles de endotoxinas y esterilidad. Se considera que las muestras son estables si, a cada una de las condiciones de temperatura sometidas a prueba, las muestras tienen un aspecto incoloro, transparente sin partículas visibles; un pH de  $7 \pm 0,3$ ; una osmolalidad de 260 a 340 mOsm/kg; una pureza de  $\geq 95\%$  (y ninguna impureza individual  $>3\%$ ); actividad objetivo que es comparable a un patrón de referencia; niveles de materiales particulados de  $\leq 6.000$  materiales particulados por vial para partículas  $\geq 10 \mu\text{m}$  y niveles de  $\leq 600$  materiales particulados por vial para partículas  $\geq 25 \mu\text{m}$ ; niveles de endotoxinas de  $\leq 100$  UE/ml; y sin crecimiento de microorganismos.

#### Ejemplo 4. Estabilidad de congelación-descongelación

40 Se llevó a cabo un estudio para someter a prueba la estabilidad de la disolución acuosa del ejemplo 1 cuando se expuso a múltiples ciclos de congelación y descongelación. R5000 no mostró degradación u otros cambios después de 5 ciclos de congelación y descongelación.

#### Ejemplo 5. Evaluación de la unión basada en resonancia de plasmón superficial (SPR)

45 Se midió la interacción de unión entre R5000 y C5 usando resonancia de plasmón superficial. R5000 se unió a C5 con una constante de disociación de equilibrio ( $K_D$ ) de 0,42 nM a  $25^{\circ}\text{C}$  ( $n=3$ ) y una  $K_D$  de 0,78 nM a  $37^{\circ}\text{C}$  ( $n=3$ ). Los datos globales de resonancia de plasmón superficial, cuando se combinan con análisis de una estructura de cocrystal de alta resolución, indican que R5000 muestra una asociación específica, fuerte y rápida con C5 así como una baja velocidad de disociación.

#### Ejemplo 6. Evaluación de la inhibición de escisión de C5

50 Se evaluó R5000 para determinar la inhibición de escisión de C5 para dar C5a y C5b. La actividad inhibitoria de R5000 con C5 huésped es un factor importante en la elección de modelos animales apropiados para determinar la seguridad de los fármacos. La inhibición de escisión de C5 es la base para la eficacia clínica para eculizumab, actualmente la única terapia aprobada para el tratamiento de HPN. R5000 demostró una inhibición dependiente de la dosis de la formación de C5a tras la activación de la ruta clásica ( $CI_{50} = 4,8$  nM; figura 1) y una inhibición dependiente de la dosis de C5b (tal como se mide mediante la formación de C5b-9 o MAC) tras la activación de las rutas clásica y alternativa del complemento ( $CI_{50} = 5,1$  nM; figura 2).

#### Ejemplo 7. Inhibición de la hemólisis de glóbulos rojos (RBC) inducida por el complemento

60 El ensayo de lisis de RBC es un método fiable para seleccionar inhibidores del complemento en suero/plasma de diversas especies y comparar las actividades relativas del artículo de prueba. Se usó un ensayo funcional *in vitro* con el fin de evaluar la actividad inhibitoria de péptidos, incluyendo R5000, frente a la función del complemento en varias especies. Este ensayo somete a prueba la capacidad funcional de los componentes del complemento de la ruta clásica para someter a lisis RBC de oveja recubiertos previamente con anticuerpos de conejo anti-RBC de

oveja. Cuando se incuban RBC recubiertos con anticuerpo con suero de prueba, se activa la ruta clásica del complemento y se produce hemólisis como resultado y se monitoriza mediante la liberación de hemoglobina. Se usaron glóbulos rojos de oveja sensibilizados frente a anticuerpo como vehículo para la lisis en este ensayo y se usaron los sueros y/o plasma de diversas especies a su actividad hemolítica del complemento al 50% (CH<sub>50</sub>) predeterminada.

R5000 demostró una potente inhibición de la hemólisis de RBC inducida por el complemento en el suero y/o plasma de humanos, primates no humanos y cerdos (véase la siguiente tabla).

Tabla 1. Inhibición de hemólisis de glóbulos rojos mediante R5000 en múltiples especies

Especie	CI <sub>50</sub> (nM)
Humano	6,6
Primate no humano (4 especies)	de 3,5 a 17,6
Perro	> 4700
Conejo	> 67000
Porcina (2 especies)	de 51,9 a 118,6
Roedores (3 especies)	de 591 a > 100000

Se observó una actividad débil en plasma de rata (> 100 veces menor que el macaco cangrejero) y se observó de poca a ninguna actividad en otros roedores, perro o conejo. Datos estructurales obtenidos de una cristalización conjunta de C5 humano con una molécula estrechamente relacionada con R5000 proporcionaron una explicación para esta selectividad de especie a través de un cuidadoso análisis de la secuencia de aminoácidos primaria en el sitio de unión a fármaco de la proteína diana. Mientras que las secuencias de primate están conservadas al 100% dentro de los residuos responsables de las interacciones con R5000, hubo diferencias significativas en estos residuos en roedores y particularmente en perro en el que no existen partes idénticas de la proteína. Estas diferencias de aminoácidos fueron suficientes para explicar los perfiles de actividad de R5000 en las diferentes especies.

También se sometió a prueba la capacidad de R5000 para inhibir la lisis mediada por el complemento de eritrocitos a través de las rutas clásica y alternativa de activación del complemento. La ruta clásica se evaluó usando dos ensayos diferentes utilizando eritrocitos de oveja sensibilizados frente a anticuerpo. En un método, se evaluó la hemólisis usando suero humano normal al 1%, mientras que el segundo ensayo utilizó sueros humanos empobrecidos en C5 al 1,5% que contenían C5 humano 0,5 nM. La inhibición de la ruta alternativa de activación del complemento se evaluó usando eritrocitos de conejo en suero humano normal al 6% en ausencia de calcio (véase la siguiente tabla).

Tabla 2. Inhibición de la hemólisis mediante R5000 en las rutas de activación del complemento

Ruta	CI <sub>50</sub>
Ruta clásica	4,9
Sueros empobrecidos en C5 - ruta clásica	2,4
Ruta alternativa	59,2

R5000 demostró una lisis mediada por el complemento tanto en los ensayos de la ruta clásica como en el ensayo de la ruta alternativa.

Ejemplo 8. Farmacodinamia en macacos cangrejeros

R5000 es un potente inhibidor del complemento en primates, por tanto se seleccionaron macacos cangrejeros para estudios multidosis para evaluar la actividad inhibitoria de R5000 en un modelo animal. Se determinaron las concentraciones de fármaco en plasma mediante CL-EM y se sometió a ensayo la actividad del complemento usando el ensayo de lisis de RBC descrito en el ejemplo anterior. Los resultados globales de estos estudios indicaron que los niveles de fármaco en plasma deben ser de o mayores de 2,5 µg/ml en monos para lograr una inhibición de la actividad del complemento >90% (véase la figura 3).

Se administró R5000 a macacos cangrejeros en múltiples dosis diarias mediante inyecciones subcutáneas (s.c.) en un estudio de 7 días. Se analizaron muestras de sangre para determinar la hemólisis como un indicador de actividad del complemento en los puntos de tiempo indicados (para los días 1, 4 y 7, los datos se notifican como días después de la primera dosis, pero antes de la dosificación en el día respectivo) usando un ensayo de lisis de RBC de oveja ex

vivo con plasma al 1% en el ensayo. Se determinaron los niveles de fármaco de la misma muestra usando un método de CL-EM específico para R5000. Tal como se muestra en la siguiente tabla y en las figuras 4A y 4B, cuando se administró R5000 diariamente durante 7 días a o bien 0,21 o bien 4,2 mg/kg, se observó una actividad del complemento mínima (< 3% de antes de la dosis) durante todo el periodo de dosificación.

5

Tabla 3. Valores farmacodinámicos medios

N.º de animales a los que se administra dosis	Dosis diaria (mg/kg)	Vía	Último punto recogido (días)	% de hemólisis						
				Día 1	Día 4	Día 7	Día 8	Día 12	Día 14	Día 18
2	0,21	s.c.	18	2,9	1,9	2,4	5,4	75,4	> 95	> 95
2	4,2	s.c.	18	< 1	< 1	< 1	1,1	8,7	45,7	87,3

La hemólisis en el ensayo *ex vivo* se mantuvo por debajo del 90% del nivel inicial después de la primera dosis en el grupo de 0,21 mg/kg, durante todo el periodo de dosificación, y hasta 24 horas después de la última dosis. Se observaron niveles crecientes de hemólisis después de interrumpirse el tratamiento. En el día 4 (264 horas en la figura 4A) después de administrarse la última dosis, la hemólisis era > 75% del nivel inicial. Esto se correlaciona bien con los niveles en plasma medidos para el compuesto durante y después de la dosificación (línea discontinua en la figura 4A). Al segundo grupo de animales en el estudio multidosis se le administraron diariamente dosis de 4,2 mg/kg de R5000. En este grupo, la hemólisis se inhibió esencialmente por completo (a < 1%) durante la dosificación y se mantuvo por debajo del 3% a las 48 horas después de la última dosis (día 9; 216 horas en la figura 4B). Cuatro días después de la dosis final (264 horas en la figura 4B), la hemólisis alcanzó aproximadamente el 10% del nivel inicial. De nuevo, este resultado demostró la supresión de la actividad del complemento durante todo el periodo de dosificación (en comparación con los resultados antes de la dosis) que se correlaciona con concentraciones de fármaco en plasma y demostró una excelente correlación entre los valores farmacocinéticos y farmacodinámicos.

Se evaluó la actividad inhibitoria del complemento de R5000 en un estudio de dosis repetidas de 28 días en macaco cangrejero usando el ensayo de hemólisis de RBC *ex vivo*. Se administró R5000 diariamente mediante inyección subcutánea durante 28 días a 0, 1, 2 ó 4 mg/kg/día (día 1: figura 7 y día 28: figura 8). Los resultados demuestran una completa inhibición de la hemólisis a partir de 2 horas después de la administración de la primera dosis a lo largo de 28 días de dosificación, con porcentajes de hemólisis de < 5% en los grupos de 1, 2 y 4 mg/kg/día, en comparación con > 90% en el grupo de control. Después de un periodo de recuperación de 28 días, los valores de muestra volvieron casi a los niveles de hemólisis de nivel inicial y se observó de poca a ninguna inhibición del sistema del complemento. La ausencia de actividad de inhibición del complemento al final del periodo de recuperación indicó el aclaramiento del fármaco a partir de los animales.

También se sometió a prueba la inhibición del complemento como parte de un estudio de dosis repetidas de 13 semanas en el macaco cangrejero. Se analizaron muestras de mono usando el ensayo de hemólisis de RBC *ex vivo*. Se administró R5000 diariamente mediante inyección subcutánea durante 13 semanas a dosis de 0, 0,25, 1, 2 ó 10 mg/kg/día. De manera similar al estudio de 28 días, los resultados del estudio de 13 semanas demostraron una completa inhibición de la hemólisis *ex vivo* a partir de 2 horas después de la administración de la primera dosis a lo largo de 13 semanas de dosificación, con porcentajes de hemólisis de < 5% en grupos de 0,25, 1, 2 y 10 mg/kg/día, en comparación con > 90% en el grupo de control. Después de un periodo de recuperación de 28 días, los valores de muestra volvieron casi a los niveles de hemólisis de nivel inicial y se observó de poca a ninguna inhibición del sistema del complemento. La ausencia de actividad de inhibición del complemento al final del periodo de recuperación indicó el aclaramiento del fármaco a partir de los animales.

#### Ejemplo 9. Farmacología de seguridad

No se observaron efectos adversos sobre los parámetros de los sistemas cardiovascular, respiratorio o nervioso central cuando se administró R5000 a macacos cangrejeros. Se evaluaron parámetros de farmacología de seguridad *in vitro* usando el ensayo del gen relacionado con "éter a go-go" humano (hERG) e *in vivo* usando monos para determinar los parámetros cardiovasculares, respiratorios y del SNC. La evaluación de la farmacología de seguridad del SNC se llevó a cabo como parte de un estudio de toxicología en primates no humanos de 28 días. En la siguiente tabla se presenta un resumen de los estudios de farmacología de seguridad con R5000.

Tabla 4. Resultados de estudios de farmacología de seguridad

Tipo de estudio	Parámetro de seguridad	Modelo	Concentración más alta sometida a prueba
-----------------	------------------------	--------	--

Farmacología de seguridad	Ensayo de hERG cardiovascular	Células HEK293	300 $\mu$ M (1,07 mg/ml)
	Cardiovascular	Mono	79,1 $\mu$ g/ml
	Respiratorio		
	SNC	Mono	64,2 $\mu$ g/ml

5 Se evaluó el efecto *in vitro* de R5000 sobre la corriente de los canales de potasio de hERG clonado (un sustituto para  $I_{Kr}$ , la corriente de potasio cardiaca rectificadora retardada de activación rápida) expresada en células de riñón embrionario humanas 293 usando un sistema de registro electrofisiológico de fijación de voltaje paralelo. La concentración más alta sometida a prueba (300  $\mu$ M) no dio como resultado una inhibición de hERG mayor del 50% y, por tanto, se estimó que la  $CI_{50}$  para R5000 era mayor de 300  $\mu$ M (1,07 mg/ml).

10 El estudio de farmacología de seguridad cardiovascular y respiratoria *in vivo* se llevó a cabo en macacos cangrejeros macho conscientes. No hubo muertes ni acontecimientos clínicos significativos tras la administración de R5000. No se observaron efectos relacionados con R5000 sobre la morfología y los intervalos de latido cardiaco completos en ninguna de las dosis de R5000 (2 ó 10 mg/kg en el día 1 y día 8). Sólo se observaron variaciones circadianas normales en electrocardiogramas y temperaturas corporales (comparables a lecturas tratadas con vehículo). Además, no hubo cambios en la frecuencia cardiaca y la tensión arterial que pudieran atribuirse a R5000 a dosis de hasta 10 mg/kg y a niveles de fármaco en plasma de hasta 79,1  $\mu$ g/ml.

15 No hubo cambios en ninguno de los parámetros respiratorios (frecuencia respiratoria, volumen corriente y volumen respiratorio por minuto) tras el tratamiento con R5000 a 2 ó 10 mg/kg en comparación con antes de la dosis o con valores obtenidos tras la administración de vehículo.

20 Se administró R5000 mediante inyección subcutánea diariamente a macacos cangrejeros a 1, 2 ó 4 mg/kg/día y se estudiaron sus efectos sobre el sistema nervioso central (SNC). Los parámetros para la evaluación incluyeron actitud general, comportamiento, funciones motoras, nervios craneales, propiocepción, reacciones posturales y nervios espinales. No se observaron alteraciones neurológicas tras el tratamiento con R5000.

25 En conclusión, la inyección subcutánea (s.c.) de R5000 a niveles de dosis de hasta 10 mg/kg que dieron como resultado una  $C_{m\acute{a}x}$  de 79,1  $\mu$ g/ml se toleró bien y no dio como resultado ningún efecto adverso sobre los sistemas cardiovascular (sin riesgo elevado de prolongación de QT, una medida de la repolarización ventricular retardada), respiratorio o nervioso central de macacos cangrejeros conscientes.

30 Ejemplo 10. Farmacocinética y metabolismo farmacológico en animales

En la siguiente tabla se indican estudios que evalúan la absorción *in vitro* e *in vivo*, la distribución, el metabolismo y la excreción de R5000. En la siguiente tabla, CYP se refiere a la enzima citocromo P450 y UGT se refiere a la enzima UDP-glucuronosiltransferasa.

35

Tabla 5. Estudios no clínicos de metabolismo farmacológico y farmacocinética (DMPK) de R5000

Tipo de estudio	Sistema de prueba	Sustrato/método de administración
Absorción	Rata Sprague-Dawley	s.c.; 1 y 10 mg/kg
	Macaco cangrejero	i.v., s.c.; 0,5 mg/kg
Distribución	Unión a proteínas de rata, mono y humano; reparto en sangre con respecto a plasma humano	<i>in vitro</i> , plasma; <i>in vitro</i> , sangre completa
Metabolismo	Estabilidad metabólica: sangre completa/plasma; metabólicos: plasma	Rata, mono, humano Macaco cangrejero
Excreción	Macaco cangrejero con cánula insertada en las vías biliares	Macaco cangrejero
Interacciones farmacocinéticas del fármaco	Inhibición de CYP y UGT	Microsomas de hígado humano (CYP) y enzima recombinante humana (UGT)

40 Aunque R5000 es altamente estable *in vitro*, en plasma de rata, mono y humano, el perfil farmacocinético tras la administración intravenosa (i.v.) y s.c. fue diferente en mono en comparación con rata (figura 5A). La cinética de

eliminación lenta observada en mono se impulsó en gran medida por la interacción de alta afinidad con la proteína C5 diana y otras proteínas plasmáticas (por ejemplo, albúmina). La falta de unión a diana específica en la rata condujo a una eliminación más rápida de R5000, que se reflejó en un  $t_{1/2}$  terminal de 4-5 horas en comparación con > 3 días en el mono.

En general, los datos preclínicos demostraron una alta biodisponibilidad (> 75%) de R5000 tras la administración subcutánea. En monos, las concentraciones máximas en sangre ( $t_{m\acute{a}x}$ ) se logran entre 8 y 16 horas después de la administración s.c., indicando una absorción relativamente lenta desde el espacio subcutáneo. Los datos agregados que incluyen volumen de distribución, alto grado de unión a proteína en plasma y reparto en el compartimento plasmático en sangre completa indican que R5000 se restringe predominantemente al espacio plasmático, con poca distribución en los tejidos.

#### Absorción

Se realizaron estudio farmacocinéticos (PK) en ratas (dosis única) y macacos cangrejeros (dosis única y múltiple) usando R5000 en formulaciones en solución salina tamponada con fosfato (pH 7,0).

Para estudios con ratas, se inyectó una única dosis de R5000 por vía subcutánea en ratas Sprague Dawley macho (n=3) a 1 mg/kg o 10 mg/kg. Los parámetros farmacocinéticos (PK) medidos incluían  $C_{m\acute{a}x}$  (concentración máxima de fármaco en plasma),  $T_{m\acute{a}x}$  (tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima en plasma tras la administración de fármaco),  $t_{1/2}$  (semivida),  $AUC_{0-\acute{u}ltimo}$  (área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo entre la primera y la última dosis) y  $AUC_{0-\infty}$  (área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo desde el momento cero hasta el infinito). Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 6. Parámetros farmacocinéticos

Parámetros PK (media)	Dosis	
	1 mg/kg	10 mg/kg
$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml)	5.303	45.567
$T_{m\acute{a}x}$ (h)	4,67	5,33
$t_{1/2}$ (h)	9,54	9,27
$AUC_{0-\acute{u}ltimo}$ (ng·h/ml)	98.949	987.288
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/ml)	99.217	988.530

El valor medio de  $AUC_{0-\acute{u}ltimo}$  tanto a 1 mg/kg como a 10 mg/kg sugiere una exposición proporcional a la dosis.

Para estudios con primates, se llevó a cabo el análisis farmacocinético en macacos cangrejeros después de una dosis única o bien intravenosa o bien subcutánea de 0,4 ó 0,5 mg/kg. Los parámetros farmacocinéticos (PK) medidos incluían aclaramiento (CL),  $V_z$  (volumen de distribución),  $V_{ss}$  (volumen aparente de distribución en estado estacionario),  $C_{m\acute{a}x}$  (concentración máxima de fármaco en plasma),  $T_{m\acute{a}x}$  (tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima en plasma tras la administración de fármaco),  $t_{1/2}$  (semivida),  $AUC_{0-\acute{u}ltimo}$  (área bajo la curva de concentración en plasma frente a tiempo entre la primera y la última dosis) y  $AUC_{0-\infty}$  (área bajo la curva de concentración en plasma frente a tiempo desde el momento cero hasta el infinito) y % de F (fracciones). Los resultados se presentan en la siguiente tabla; NA indica no aplicable.

Tabla 7. Parámetros farmacocinéticos en el macaco cangrejero

Parámetro PK (media)	Dosis (0,4 mg/kg)	
	i.v.	s.c.
CL (ml/min/kg)	0,011	NA
$V_z$ (l/kg)	175,5	NA
$V_{ss}$ (ml/kg)	163,5	NA
$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml)	4.745,5	2.490
$T_{m\acute{a}x}$ (h)	0,25	8,0
$t_{1/2}$ (h)	182,5	177,5
$AUC_{0-\acute{u}ltimo}$ (ng·h/ml)	429.638	325.317,5

AUC <sub>0-∞</sub> (ng·h/ml)	601.392,5	439.187
% de F	NA	75,7

Las dosis s.c. únicas de 0,4 mg/kg dieron como resultado una exposición en plasma (AUC<sub>último</sub>) de R5000 tras las dosis i.v. y s.c. de 429.638 y 325.317 ng·h/ml, respectivamente. La concentración máxima en plasma (C<sub>máx</sub>) de R5000 tras la dosificación i.v. y s.c. fue de 4.745,5 y 2.490 ng/ml, respectivamente, y el T<sub>máx</sub> tras la dosificación s.c. fue de 8 horas. Se determinó que la biodisponibilidad subcutánea a 0,4 mg/kg era del 75,7%. La t<sub>1/2</sub> media fue de 182,5 y 177,5 horas para las dosis i.v. y s.c., respectivamente. Se determinó que el volumen medio de distribución asociado con la fase terminal (V<sub>z</sub>) y el aclaramiento (CL) para lo dosis i.v. era de 175,5 ml/kg y 0,011 ml/min/kg, respectivamente. Este perfil contrasta con la rata en la que no se esperaba ninguna unión apreciable basándose en los estudios de actividad *in vitro* y, por tanto, la t<sub>1/2</sub> de R5000 fue de 4-5 horas (véase la figura 5A).

Los estudios farmacocinéticos de dosis repetidas en monos incluyeron dos niveles de dosis subcutánea de 0,21 y 4,2 mg/kg administrados cada día durante 7 días, evaluándose la PK cada día y durante 14 días tras la última dosis. En estudios de dosis múltiple llevados a cabo en monos, la C<sub>máx</sub> aumentó con dosis posteriores hasta que se alcanzó un nivel de fármaco pico y valle en estado estacionario (después de 2 a 3 dosis; véanse las figuras 4A, 4B y 5B). Las concentraciones en plasma en los grupos de dosis de 0,2 y 4 mg/kg alcanzaron una C<sub>máx</sub> promedio después de la primera dosis de 2.615 y 51.700 ng/ml, respectivamente. La C<sub>máx</sub> aumentó en ambos grupos con cada dosis sucesiva debido a la larga semivida de la molécula. Para la cuarta dosis, la C<sub>máx</sub> media para los grupos de dosis de 0,21 y 4,2 mg/kg era de 5.305 y 68.750 ng/ml, o 2,0 y 1,3 veces la primera dosis, respectivamente

En general, la absorción pudo caracterizarse como lenta desde el espacio s.c., con alta biodisponibilidad de la dosis s.c..

#### Distribución

La unión de proteína en plasma *in vitro* fue de > 99,9% en plasma de humano, rata y mono, tal como se determina mediante diálisis en equilibrio a una concentración de fármaco de 10 y 100 μM. La alta unión a proteínas y el limitado volumen de distribución indican que R5000 puede restringirse principalmente al compartimento plasmático y no se distribuye fácilmente en el espacio perivascular.

#### Reparto en sangre

Se calculó la razón de fármaco repartido entre plasma y glóbulos rojos, ya que es un parámetro crítico requerido para evaluar las propiedades farmacocinéticas de un fármaco (véase la siguiente tabla). En la siguiente tabla, RBC indica glóbulos rojos, P indica plasma y WB indica sangre completa.

Tabla 8. Reparto en sangre de R5000

Especie	Concentración de dosificación del artículo de prueba (μM)	Reparto en RBC con respecto a plasma (K <sub>RBC/P</sub> )	Reparto en sangre completa con respecto a plasma (K <sub>WB/P</sub> )
Humano	2	0,25	0,72
Humano	20	0,20	0,70
Humano	200	0,37	0,76

En ensayos de reparto en sangre completa, se encontró que R5000 estaba predominantemente presente en la fracción de plasma y no mostró una distribución significativa en la fracción de eritrocitos.

#### Interacción farmacocinética de fármacos

Un medicamento administrado comúnmente en hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es ciclosporina (CsA). Se evaluó el potencial de interacción fármaco-fármaco entre R5000 y CsA en macacos cangrejeros dado que es probable que R5000 se administre conjuntamente con CsA en los pacientes con HPN incluidos en los ensayos clínicos planificados.

Se administraron R5000 (2 mg/kg, s.c., dosis única) y ciclosporina A (CsA) (15 mg/kg, s.c., dosis única) independientemente o juntos en dos monos macho y se evaluaron los niveles en plasma usando métodos de CL-EM/EM. No se observaron cambios significativos en la exposición en plasma de cada fármaco, lo que indica una bajo potencial de interacción fármaco-fármaco (véase la siguiente tabla). En la siguiente tabla, C<sub>máx</sub> indica la concentración máxima de fármaco en plasma y AUC indica el área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo, "a" adyacente a la diferencia en exposición indica la razón de exposiciones para R5000+ciclosporina/R5000. "b"

adyacente a la diferencia en exposición se refiere a la razón de exposiciones para ciclosporina+R5000/ciclosporina.

Tabla 9. Efectos de la administración conjunta

Parámetro	R5000 solo	R5000 + ciclosporina	+ Ciclosporina sola	R5000 + ciclosporina
AUC (ng·h/ml)				
Media	654.317	773.030	6.317	8.469
Diferencia en exposición <sup>a</sup> (%)	-	118	-	134
C <sub>máx</sub> (ng·h/ml)				
Media	15.150	12.550	248	306
Diferencia en exposición <sup>b</sup> (%)	-	83	-	124

5 No se observaron cambios en los parámetros químicos en suero incluyendo la bilirrubina (un sustrato endógeno de OATP1 y OATP1B3), lo que indica que no hubo ningún efecto aditivo de CsA y R5000 sobre estos transportadores. En resumen, la administración conjunta de CsA con R5000 tuvo un bajo potencial de interacción fármaco-fármaco, y se toleró bien sin ningún efecto sobre los parámetros químicos en suero a niveles en plasma cercanos o por encima de los esperados en el uso clínico.

10 Ejemplo 11. Modelado farmacocinético/farmacodinámico y simulación de farmacocinética en humanos

15 Se construyó un modelo PK/PD *in silico* usando datos *in vivo* obtenidos en macacos cangrejeros. Se estimaron el ajuste y la precisión del modelo comparando resultados simulados con datos experimentales recién generados. Una vez validado en monos, se usó el modelo final para predecir la farmacocinética en humanos aplicando escala alométrica a sus parámetros. Las simulaciones resultantes respaldan un intervalo de dosificación previsto de una vez al día o con menor frecuencia en humanos, con dosis diarias de 0,1 mg/kg que mantienen casi el 90% de inhibición objetivo en el estado estacionario (véase la figura 6). Debido a la larga semivida de R5000, son necesarias varias dosis para alcanzar los niveles de fármaco pico y valle finales. Se espera que la C<sub>máx</sub> en plasma sea aproximadamente 3 veces mayor tras una semana de dosificación diaria que la primera dosis cuando los niveles de fármaco alcanzan el estado estacionario.

25 Ejemplo 12. Efectos en humanos: diseño de estudio del ensayo clínico de fase I.

30 Se llevó a cabo un estudio aleatorizado, controlado por placebo, de doble ciego, de dosis única ascendente, y de múltiples dosis para evaluar la seguridad y la farmacocinética de R5000 en voluntarios sanos, de 18-65 años de edad (excluyendo individuos pediátricos y ancianos). En la primera parte del estudio, se administró una dosis única creciente (SAD) de R5000, o placebo, a cohortes separadas de sujetos. En la segunda parte del estudio, a una cohorte de múltiples dosis (MD) se le administraron 0,2 mg/kg de R5000 (n=4) o placebo (n=2) cada día durante 7 días. Todas las dosis de R5000 se administraron mediante inyección subcutánea con el volumen de dosis determinado por los requisitos de dosis de la cohorte y el peso del sujeto. Se excluyeron sujetos que estaban embarazadas o en periodo de lactancia así como cualquier sujeto con infección sistémica o colonización con *Neisseria meningitidis*. Además, todos los sujetos recibieron profilaxis con ciprofloxacina, y los sujetos en la cohorte de dosis única más alta (es decir 0,4 mg/kg) así como los sujetos en la cohorte de múltiples dosis se vacunaron contra *Neisseria meningitidis* al menos 14 días antes del estudio.

40 Se incluyó un total de 22 sujetos en el estudio de cohorte de dosis única (n=14), de los cuales, 2 recibieron R5000 a 0,05 mg/kg, 4 a cada uno de 0,10, 0,20 y 0,40 mg/kg. Estas dosis se seleccionaron usando márgenes de seguridad estimados en humanos (véase el ejemplo anterior y la siguiente tabla). En la siguiente tabla, C<sub>máx</sub> indica la concentración máxima de fármaco en plasma y AUC<sub>0-último</sub> indica el área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo entre la primera y la última dosis.

45 Tabla 10. Comparaciones de exposición en plasma tras múltiples dosis en el NOAEL en animales y la dosis clínica única más alta propuesta de 0,8 mg/kg

Parámetro, del estudio de 28 días	Exposición media en el animal el último día (día 28) a NOAEL (4 mg/kg)	Exposición predicha en humanos a 0,8 mg/kg	Margen aproximado
C <sub>máx</sub> de mono (µg/ml)	64,2	8	8
AUC <sub>0-último</sub> (µg·h/ml)	2140	413	5

La dosis inicial de 0,05 mg/kg está bien por debajo de 1/10 de la estimación de dosis equivalente en humanos (HED). Esta dosis se considera apropiada porque no se esperaba una inhibición significativa del complemento a esta dosis. Las exposiciones sistémicas predichas para seguir la dosis única s.c. más alta propuesta en el ensayo, 0,8 mg/kg, se superan por las exposiciones finales (día 28) en el NOAEL en monos.

En la cohorte de múltiples dosis, se incluyeron 6 sujetos, de los cuales 4 recibieron R5000 (0,2 mg/kg) y 2 recibieron placebo.

Ejemplo 13. Tratamiento de pacientes con HPN

Se tratan pacientes que padecen HPN con R5000 a una dosis eficaz de desde 0,1 mg/kg/día hasta 40 mg/kg/día. Se observa una inhibición del complemento mayor del o igual al 90% en estos pacientes y se logra una C<sub>máx</sub> de 3,1 µg/ml.

Ejemplo 14. Estudio clínico de múltiples dosis de R5000

Se llevó a cabo un estudio farmacológico clínico de múltiples dosis de fase 1 en voluntarios humanos sanos diseñado para evaluar la seguridad, tolerabilidad, farmacocinética y farmacodinamia de R5000 tras inyecciones subcutáneas (s.c.) una vez al día durante 7. El estudio fue de centro único, aleatorizado, de doble ciego y controlado por placebo (PBO). Los sujetos recibieron dosis s.c. diarias de 0,2 mg/kg de R5000 o PBO equivalente durante 7 días mientras se alojaban en una unidad farmacológica clínica. Se evaluó la seguridad mediante monitorización clínica intensiva y se obtuvieron muestras de sangre diarias inmediatamente antes de la dosificación así como 3 horas y 6 horas después de la dosis de cada día para la determinación de las concentraciones de R5000 mediante cromatografía de líquidos/espectrometría de masas de alta resolución y la capacidad para inhibir la lisis de RBC mediada por el complemento en un ensayo de hemólisis de eritrocitos de oveja sensibilizados frente a anticuerpos *ex vivo*.

Se incluyó un total de 6 sujetos en el estudio (4 que recibieron R5000 y 2 que recibieron PBO). Los datos demográficos de sujetos se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 11. Datos demográficos de sujetos

	Tratados con placebo, n=2	Tratados con R5000, n=4
Razón hombre:mujer	0:2	1:3
Edad media, años (mín., máx.)	27 (25, 29)	24 (22, 26)
Índice de masa corporal medio, kg/m <sup>2</sup>	21	23
Caucásico:asiático	2:0	3:1

Tal como se observa en la siguiente tabla y se hace referencia en la figura 9A (que demuestra el porcentaje de hemólisis y concentración en plasma durante 7 días), las concentraciones en plasma mostraron una exposición constantemente creciente durante los 7 días de dosificación. A partir de estos datos, se determinó que la semivida de R5000 era de 7 días. Los niveles en plasma volvieron a alrededor de 2000 ng/ml para el día 15 y a alrededor de 1000 ng/ml para el día 21 (figura 9B).

Tabla 12. Concentraciones en plasma de R5000

Punto de tiempo (h)	Concentración de R5000 (ng/ml)			
	Sujeto 1	Sujeto 2	Sujeto 3	Sujeto 4
0	0	0	0	0
3	2510	2410	2560	2520
6	2300	2390	2410	2650
24	1890	1750	1810	2220
27	3870	4050	4280	4110
30	3650	3730	4310	4000
48	2910	2650	3370	3330
51	5200	4910	5330	5500

54	4820	4220	5100	4900
72	3680	3340	3780	4460
75	6310	5240	5280	6110
78	5720	5570	5880	6140
96	4650	3790	4840	4540
99	6660	5320	6860	6770
102	7000	5440	6550	6820
120	4840	4430	5200	5280
123	7210	6410	7210	7700
126	7290	5850	6880	7020
144	5170	4210	4920	5430
147	7430	6320	7490	7780
150	6920	6130	7630	7110
168	5750	4940	5730	5670

Los parámetros PK de R5000 tras la administración s.c. de múltiples dosis (0,2 mg/kg/día) durante 7 días se presentan en la siguiente tabla. Los parámetros farmacocinéticos (PK) medidos incluyen aclaramiento (CL), C<sub>máx</sub> (concentración máxima de fármaco en plasma), T<sub>máx</sub> (tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima en plasma tras la administración de fármaco), t<sub>1/2</sub> (semivida), AUC<sub>tau</sub> (área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo desde el momento cero hasta 24 horas), AUC<sub>0-inf</sub> (área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo desde el momento cero hasta el infinito), V<sub>z</sub>/F (volumen aparente de distribución), K<sub>el</sub> (velocidad de eliminación) y F (fracciones).

Tabla 13. Resumen de parámetros PK

Parámetro PK	Estadística	R5000 (0,20 mg/kg) (N=4)	
		Día 1	Día 7
C <sub>máx</sub> (ng/ml)	Media (DE)	2533 (100,1)	7290 (662,4)
T <sub>máx</sub> (h)	Mediana (mín., máx.)	3 (3, 6)	3 (3, 6)
AUC <sub>tau</sub> (ng*h/ml)	Media (DE)	50010 (3334,0)	151300 (12042)
AUC <sub>0-inf</sub> (ng*h/ml)	Media (DE)	NC	1101000 (108220)
t <sub>1/2</sub> (h)	Media (DE)	NC	161,9 (14,8)
K <sub>el</sub> (l/h)	Media (DE)	NC	0,004309 (0,00041325)
CL/F (ml/h/kg)	Media (DE)	NC	1,330 (0,114)
V <sub>z</sub> /F (ml/kg)	Media (DE)	NC	311,6 (51,4)

En el día 1, la C<sub>máx</sub> y el AUC<sub>tau</sub> medias fueron de 2533 ng/ml y 50.010 ng\*h/ml, respectivamente, coherentes con los resultados de la cohorte de dosis única de 0,2 mg/kg a lo largo del mismo periodo después de la dosis. Tras la administración s.c. diaria durante 7 días, la C<sub>máx</sub> y el AUC<sub>tau</sub> aumentaron en aproximadamente 2,9 veces (en el día 7, C<sub>máx</sub> media = 7290 ng/ml) y 3,0 veces (en el día 7, AUC<sub>tau</sub> media = 151.300 ng\*h/ml), respectivamente. La mediana del tiempo hasta la concentración máxima en plasma (T<sub>máx</sub>) en el día 7 fue de 3,0 horas, que era coherente con el T<sub>máx</sub> tras la administración s.c. de una única dosis (mediana en el día 1 de T<sub>máx</sub> = 3,0 - 4,6 horas). Esto indica una velocidad de absorción de R5000 coherente con dosificación repetida. El aclaramiento corporal total aparente medio en el día 7 de R5000 (en el día 7, CL/F = 1,3 ml/h/kg) aumentó ligeramente con respecto al aclaramiento corporal total tras una única dosis s.c. a 0,2 mg/kg [dosis única creciente (SAD) de 0,2 mg/kg, CL/F = 0,29 ml/h/kg]. Sin

embargo, la constante de velocidad de eliminación ( $K_{el}$ ) para R5000 era coherente tras la dosificación única y repetida (SAD de 0,2 mg/kg,  $K_{el}$  media = 0,0041 h<sup>-1</sup>; MD de 0,2 mg/kg, en el día 7,  $K_{el}$  media = 0,0043 h<sup>-1</sup>) lo que indica que el aclaramiento de R5000 no cambia significativamente con la dosificación repetida. El volumen aparente de distribución de R5000 ( $V_z/F$ ) mostró cierto aumento con la administración de múltiples dosis de R5000 (SAD de 0,2 mg/kg,  $V_z/F$  medio = 71,4 ml/kg; MD de 0,2 mg/kg, en el día 7,  $V_z/F$  medio = 311,6 ml/kg). Sin embargo,  $V_z/F$  en el día 7 para R5000 todavía era menor que el agua corporal total, lo que sugiere que R5000 no se distribuye en el espacio extravascular tras la administración s.c. repetida.

Tabla 14. Análisis de la hemólisis

Punto de tiempo (h)	% de hemólisis (tratados)				% de hemólisis (placebo)	
	Sujeto 1	Sujeto 2	Sujeto 3	Sujeto 4	Sujeto 5	Sujeto 6
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
3	5,8	1,9	5,0	2,9	99,4	102,7
6	6,0	1,6	5,2	2,3	90,8	99,4
24	9,3	2,4	8,9	2,9	105,8	100,7
27	4,9	1,2	4,0	1,0	112,3	96,1
30	4,6	1,5	4,6	2,2	110,5	100,6
48	6,6	2,0	6,9	2,1	120,6	107,2
51	4,0	1,4	3,6	1,9	118,4	97,3
54	3,7	1,4	3,6	1,8	133,5	98,0
72	5,0	1,6	3,8	1,7	114,4	97,9
75	2,9	0,8	2,7	1,3	121,4	98,2
78	3,0	0,9	4,7	1,5	119,4	94,6
96	3,9	1,1	4,0	6,5	111,5	95,2
99	2,9	0,9	2,7	1,0	122,0	101,1
102	3,6	1,4	3,8	1,7	135,1	101,4
120	4,0	2,1	3,8	2,3	115,4	95,7
123	2,7	1,3	2,7	1,6	114,1	92,2
126	3,3	1,3	3,2	1,3	113,5	96,9
144	3,4	1,2	3,8	1,4	108,8	95,7
147	2,5	1,2	2,6	1,2	121,7	103,7
150	3,4	1,3	3,0	1,4	121,3	98,3
168	3,4	1,5	3,1	1,8	119,1	102,0

El porcentaje medio de inhibición de hemólisis en comparación con el nivel inicial alcanzó  $\geq 95\%$  comenzando en el primer punto de tiempo tras la dosificación, 3 horas después de la dosificación en el día 1, y continuó a lo largo de los 7 días de dosificación (véase la siguiente tabla). Todos los sujetos individuales mostraron  $\geq 90\%$  de reducción de hemólisis en todos los puntos de tiempo. Se observó que la hemólisis en el día 8 (24 horas después de recibir la última dosis) era de  $\leq 3\%$  en todos los sujetos. La hemólisis volvió a los niveles antes de la dosis en un plazo de dos semanas tras la última dosis.

El estudio sugiere que dosis diarias bajas logran niveles en estado estacionario adecuados para una inhibición del complemento y una supresión de la hemólisis completas y sostenidas. El estudio también sugiere que la dosificación una vez por semana puede ser suficiente para inhibir la actividad del complemento y reducir la hemólisis en humanos.

La actividad del complemento en muestras de plasma de sujetos se determinó mediante análisis de ELISA WIESLAB® (Euro Diagnostica, Malmo, Suecia). Este ensayo mide la ruta alternativa de activación del complemento. Tal como se mide mediante este ensayo, la supresión de la actividad del complemento fue rápida, completa y sostenida a lo largo del periodo de dosificación en todos los sujetos (véase la figura 10A y la siguiente tabla). En la siguiente tabla, EEM indica el error estándar de la media.

Tabla 15. % de actividad del complemento en el estudio de múltiples dosis

	Horas después del primer tratamiento		
	3	48	96
% de actividad del complemento mínima (EEM)	1,8 (0,8)	6,9 (0,3)	2,1 (0,1)
% de actividad del complemento promedio (EEM)	3,1 (0,6)	8,2 (1,1)	3,1 (0,8)

5 Se observó que la actividad del complemento en el día 8 (24 horas después de la última dosis) era de  $\leq 5\%$  en todos los sujetos. La actividad del complemento volvió a los niveles antes de la dosis en un plazo de dos semanas tras la última dosis (figura 10B).

10 R5000 era seguro y bien tolerado en voluntarios sanos con la excepción de algún eritema en el sitio de inyección (ISE) en 3 de los 6 sujetos, pero sin dolor, induración, dolor a la palpación o hinchazón. Todo se resolvió espontáneamente. No se observaron cambios clínicamente significativos en los signos vitales, parámetros de laboratorio clínico (hematología, bioquímica de la sangre, coagulación y análisis de orina), exámenes físicos ni ECG.

15 Se midió R5000 en el grupo de dosis de 0,20 mg/kg de la rama de múltiples dosis del estudio (véase la siguiente tabla). En la siguiente tabla,  $C_{m\acute{a}x}$  se refiere a la concentración máxima de fármaco en plasma, y  $AUC_{0-24}$  se refiere al área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo desde el momento cero hasta 24 horas.

Tabla 16. Exposición media de R5000

Compuesto	$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml)	$AUC_{0-24}$ (ng·h/ml)
R5000	7255	151815

20 Ejemplo 15. Estudio clínico de dosis única creciente de fase 1 de R5000

25 Se llevó a cabo un estudio farmacológico clínico de dosis única creciente de fase 1 en voluntarios humanos sanos diseñado para evaluar la seguridad, tolerabilidad, farmacocinética y farmacodinamia de R5000 tras la inyección subcutánea (s.c.). El estudio era aleatorizado, de doble ciego y controlado por placebo (PBO) con 4 cohortes de dosis única creciente s.c. alojados en una unidad farmacológica clínica durante 3 días. Todos los sujetos recibieron 1 dosis de R5000 en el día 1. A cuatro sujetos (2 que recibieron R5000 y 2 que recibieron PBO) se les administró el nivel de dosis más bajo (0,05 mg/kg) y a 6 sujetos por cohorte (4 que recibieron R5000 y 2 que recibieron PBO) se les administraron secuencialmente los 3 niveles de dosis más altos (0,1, 0,2 y 0,4 mg/kg). La información demográfica de sujetos se proporciona en la siguiente tabla.

30

Tabla 17. Datos demográficos de sujetos

	Tratados con placebo, n=8	Tratados con R5000, 0,05 mg/kg, n=2	Tratados con R5000, 0,1 mg/kg, n=4	Tratados con R5000, 0,2 mg/kg, n=4	Tratados con R5000, 0,4 mg/kg, n=4	Todos, n=22
Razón hombre/mujer	2 : 6	0 : 2	0 : 4	0 : 4	1 : 3	3 : 19
Edad media, años (mín., máx.)	39 (20, 59)	23 (22, 23)	27 (20, 37)	34 (22, 65)	32 (21, 58)	33 (20, 65)
Índice de masa corporal medio, kg/m <sup>2</sup>	24	20	21	26	27	24
Caucásico:negro:asiático	7 : 1 : 0	2 : 0 : 0	2 : 1 : 1	3 : 0 : 1	4 : 0 : 0	18 : 2 : 2

35 Se evaluó la seguridad mediante monitorización clínica intensiva, y se obtuvieron muestras de sangre frecuentes para la determinación de concentraciones de R5000 mediante cromatografía de líquidos/espectroscopía de masas de alta resolución y la capacidad para inhibir la lisis de RBC mediada por el complemento en un ensayo de hemólisis de eritrocitos de oveja sensibilizados frente a anticuerpo *ex vivo*.

40 Los parámetros farmacocinéticos (PK) medidos en este estudio incluyen aclaramiento (CL),  $C_{m\acute{a}x}$  (concentración máxima de fármaco en plasma),  $T_{m\acute{a}x}$  (tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima en plasma tras la administración de fármaco),  $t_{1/2}$  (semivida),  $AUC_{0-24}$  (área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo desde el momento cero hasta 24 horas; véase la figura 11B para la concentración en plasma a lo largo del tiempo),  $AUC_{0-inf}$

(área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo desde el momento cero hasta el infinito; véase la figura 11B para la concentración en plasma a lo largo del tiempo),  $V_z$  (volumen aparente de distribución durante la fase terminal),  $K$  (velocidad de eliminación) y  $F$  (fracciones). Los resultados para cada parámetro se presentan en la siguiente tabla.

5

Tabla 18. Parámetros farmacocinéticos

Parámetro PK	Estadística	R5000 (0,05 mg/kg) N=2	R5000 (0,10 mg/kg) N=4	R5000 (0,20 mg/kg) N=4	R5000 (0,40 mg/kg) N=4
$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml)	Media (DE)	1010 (14,142)	1550 (197,82)	2970 (317,80)	5873 (440,71)
$T_{m\acute{a}x}$ (h)	Mediana (mín., máx.)	4,5 (3, 6)	3,0 (3, 24)	4,5 (3, 48)	4,6 (3, 6)
$AUC_{0-24}$ (ng·h/ml)	Media (DE)	21440 (1020,9)	33230 (4605,6)	60350 (4624,8)	112300 (8623,2)
$AUC_{0-\acute{u}ltimo}$ (ng·h/ml)	Media (DE)	179800 (3214,7)	375400 (47513)	655100 (113710)	822600 (120760)
$AUC_{0-inf}$ (ng·h/ml)	Media (DE)	190700 (3081,0)	408600 (52716)	702900 (143630)	863200 (134870)
$t_{1/2}$ (h)	Media (DE)	163,5 (10,9)	185,4 (6,4)	172,0 (24,8)	155,6 (14,3)
$K_{el}$ (l/h)	Media (DE)	0,004248 (0,000283)	0,003743 (0,000128)	0,004092 (0,00058001)	0,004482 (0,00041984)
$CL/F$ (ml/h/kg)	Media (DE)	0,2622 (0,0042)	0,2481 (0,0353)	0,2933 (0,0574)	0,4711 (0,0660)
$V_z/F$ (ml/kg)	Media (DE)	61,89 (5,13)	66,41 (10,20)	71,43 (7,52)	105,10 (11,68)

10 Todas las cohortes lograron niveles de  $C_{m\acute{a}x}$  coherentes con los valores predichos a partir de un modelo de PK *in silico* generado usando datos de estudios en primates no humanos (NHP). Las concentraciones en plasma de una única inyección s.c. mostraron una relación lineal entre la  $C_{m\acute{a}x}$  y el nivel de dosis (figura 11A) y se confirmó una exposición dependiente de la dosis en todos los niveles de dosis (figura 11B). La concentración máxima en plasma ( $C_{m\acute{a}x}$ ) media osciló desde 1010 hasta 5873 ng/ml en todas las dosis. El área media bajo la curva de concentración-tiempo desde tiempo 0 hasta 24 horas después de la dosis ( $AUC_{0-24}$ ) osciló desde 21.440 hasta 112.300 ng·h/ml en todas las dosis. Estos resultados indican que, con dosis crecientes de R5000, existe un aumento aproximadamente proporcional en la concentración en plasma ( $C_{m\acute{a}x}$ ) y la exposición ( $AUC_{0-24}$ ). La mediana de tiempo hasta la concentración máxima en plasma observada ( $t_{m\acute{a}x}$ ) osciló desde 3,0 hasta 4,6 horas en todas las dosis, lo que indica que R5000 muestra una velocidad de absorción intermedia desde el espacio s.c. hasta el compartimento central (sangre). El aclaramiento corporal total aparente ( $CL/F$ ) medio después de la administración de R5000 fue bajo y osciló desde 0,2481 hasta 0,4711 ml/h/kg. La semivida ( $t_{1/2}$ ) media era coherente en todos los niveles de dosis y osciló desde 155,6 hasta 185,4 horas. El volumen aparente de distribución total ( $V_z/F$ ) medio en la fase terminal después de la administración extravascular osciló desde 61,89 hasta 105,1 ml/kg, lo que indica que R5000 se localiza principalmente en el compartimento de sangre circulante con distribución extravascular mínima. Se determinó que la  $t_{1/2}$  aproximada en todas las cohortes era de 7 días.

25 R5000 también mostró una rápida inhibición de hemólisis dependiente de la dosis [hemólisis directa (figura 12A) y % de  $CH_{50}$  (figura 12B) y lisis de glóbulos rojos en plasma al 1% a lo largo del tiempo (figura 12C)] y una supresión de la actividad del complemento (tal como se determina mediante ELISA WIESLAB® en todos los sujetos después de una única dosis, véase la figura 13). El efecto farmacodinámico máximo se observó aproximadamente 3 horas después de la dosificación. Los resultados demostraron que a la concentración máxima en plasma, el porcentaje máximo de inhibición de hemólisis en comparación con el nivel inicial alcanzó > 90% para las cohortes de dosis de 0,1, 0,2 y 0,4 mg/kg y el 60% para la cohorte de dosis más baja (0,05 mg/kg). Se observó una inhibición de hemólisis dependiente de la dosis de hasta 4 días para las cohortes de dosis de 0,1, 0,2 y 0,4 mg/kg. De manera notable, la hemólisis media se mantuvo por encima del nivel inicial durante hasta 2 días en la cohorte de 0,05 mg/kg, hasta 30 4 días en la cohorte de 0,1 mg/kg y durante hasta 7 días en las cohortes de 0,2 y 0,4 mg/kg.

35 De manera similar, el análisis de la actividad del complemento demostró que la inhibición de la actividad del complemento se mantuvo fuerte durante el transcurso de 4 días tras la inyección de 0,4 mg/kg (véase la figura 13). Se sometieron muestras de plasma humano extraídas de sujetos que recibieron inyección de 0,4 mg/kg a análisis de

ELISA WIESLAB® (Euro Diagnostica, Malmo, Suecia). Este ensayo mide la ruta alternativa de la actividad del complemento. Tal como se mide mediante este ensayo, se suprimió la actividad del complemento hasta el 3% a las 3 horas tras la dosificación y se mantuvo por debajo del 13% 96 horas después de recibir R5000.

- 5 Las dosis únicas s.c. de R5000 eran seguras y se toleraron bien en voluntarios sanos. Se observó ISE en 3 sujetos a la dosis más alta y era leve (grado 1) sin dolor, induración, dolor a la palpación o hinchazón, y se resolvió espontáneamente en un plazo de 2-5 horas después de la inyección. No se observaron cambios clínicamente significativos en los signos vitales, parámetros de laboratorio clínico, exámenes físicos ni ECG.
- 10 Este estudio sugiere que las dosis diarias bajas pueden lograr niveles en estado estacionario adecuados para una supresión de hemólisis > 80% y que la dosificación una vez por semana puede ser suficiente. Específicamente, 0,2 mg/kg puede dar como resultado una supresión completa de la actividad del complemento y una inhibición completa de hemólisis.

15 **Lista de secuencias**

- <110> RA PHARMACEUTICALS, INC.
- <120> Moduladores de la actividad del complemento
- 20 <130> 2011.1009PCT
- <140> PCT/USxx/xxxxx  
<141> 07-12-2016
- 25 <150> 62/347.486  
<151> 08-06-2016
- <150> 62/331.320  
30 <151> 03-05-2016
- <150> 62/268.360  
<151> 16-12-2015
- 35 <160> 1
- <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1  
40 <211> 15  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial
- <220>  
45 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
- <220>  
<223> Ac N-terminal
- 50 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(6)  
<223> Puente de lactama entre residuos
- 55 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (7)..(7)  
<223> (N-Me)Asp
- 60 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (8)..(8)  
<223> Terc-butyl-Gly
- 65 <220>  
<221> MOD\_RES

ES 2 781 551 T3

<222> (10)..(10)  
<223> 7-aza-Trp

5 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (14)..(14)  
<223> Ciclohexil-Gly

10 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (15)..(15)  
<223> N-épsilon-(PEG24-ácido gamma-glutámico-N-alfa-hexadecanoil)Lys

15 <400> 1  
Lys Val Glu Arg Phe Asp Asp Gly Tyr Trp Glu Tyr Pro Gly Lys  
1                   5                   10                   15

**REIVINDICACIONES**

1. Composición farmacéutica que comprende un polipéptido inhibidor de C5 que tiene la secuencia núcleo SEQ ID NO: 1 y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable comprende cloruro de sodio a una concentración de desde 25 mM hasta 100 mM y fosfato de sodio a una concentración de desde 10 mM hasta 100 mM.
2. Composición farmacéutica según la reivindicación 1:
  - (a) en la que el polipéptido está presente a una concentración de desde 1 mg/ml hasta 400 mg/ml;
  - (b) que comprende un pH de desde 6,5 hasta 7,5;
  - (c) en la que el polipéptido se une a C5 con una constante de disociación de equilibrio ( $K_D$ ) de desde 0,1 nM hasta 1 nM;
  - (d) en la que el polipéptido bloquea la producción de C5a tras la activación de la ruta alternativa de activación del complemento; o
  - (e) en la que el polipéptido bloquea la formación del complejo de ataque de membrana (MAC) tras la activación de la ruta clásica, ruta alternativa o ruta de lectina de activación del complemento.
3. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, para su uso en un método de inhibición de la hemólisis en un sujeto que comprende administrar la composición farmacéutica, en la que, opcionalmente:
  - (a) dicha composición farmacéutica se administra a una dosis suficiente para lograr niveles plasmáticos del polipéptido de desde 0,1  $\mu$ g/ml hasta 20  $\mu$ g/ml;
  - (b) la composición farmacéutica se administra a una dosis suficiente para administrar desde 0,01 mg hasta 2 mg del polipéptido por kg de peso del sujeto;
  - (c) la composición farmacéutica se administra a una dosis suficiente para administrar desde 0,1 mg hasta 0,4 mg del polipéptido por kg de peso del sujeto; o
  - (d) la composición farmacéutica se administra diariamente mediante inyección subcutánea o intravenosa a una dosis suficiente para administrar desde 0,1 mg/día hasta 60 mg/día del polipéptido por kg de peso del sujeto.
4. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 3, apartado (a), en la que, después de la administración, se inhibe la hemólisis de desde el 25% hasta el 100%, en la que, opcionalmente:
  - (a) la composición farmacéutica se administra diariamente durante al menos dos días;
  - (b) la composición farmacéutica se administra diariamente durante 7 días; o
  - (c) la composición farmacéutica se administra diariamente durante al menos 100 días.
5. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 4, en la que no se observan efectos adversos del aparato cardiovascular, aparato respiratorio y/o sistema nervioso central (SNC) durante al menos 1 mes posterior a la administración, en la que, opcionalmente:
  - (a) no se observan cambios en la frecuencia cardíaca y/o tensión arterial durante al menos 1 mes posterior a la administración; o
  - (b) no se observan cambios en la frecuencia respiratoria, el volumen corriente y/o el volumen respiratorio por minuto durante al menos 1 mes posterior a la administración.
6. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 3-5, en la que la composición farmacéutica se administra por vía subcutánea (s.c.) o por vía intravenosa (i.v.), en la que, opcionalmente:
  - (a) la semivida ( $t_{1/2}$ ) de los niveles de polipéptido en plasma del sujeto es de al menos 4 horas;
  - (b) la  $t_{1/2}$  de los niveles de polipéptido en plasma del sujeto es de desde 1 día hasta 10 días;

- (c) el volumen en estado estacionario de distribución del polipéptido en plasma del sujeto es de desde 10 ml/kg hasta 200 ml/kg;
- 5 (d) el volumen en estado estacionario de distribución del polipéptido en plasma del sujeto es igual a al menos el 50% de volumen sanguíneo total;
- (e) la tasa de aclaramiento total del polipéptido en plasma del sujeto es de desde 0,04 ml/h/kg hasta 4 ml/h/kg;
- 10 (f) el  $T_{\text{máx}}$  del polipéptido en plasma del sujeto es de desde 1 hora hasta 48 horas; o
- (g) la presencia de cantidades medibles del polipéptido se limita sustancialmente al compartimento plasmático.
- 15 7. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 3, apartado (b), en la que se inhibe del 50% al 99% de la activación de C5 en el sujeto.
8. Composición farmacéutica para su uso de cualquiera de las reivindicaciones 3, opciones (b)-(c), o 7, en la que la composición farmacéutica se administra por vía subcutánea o por vía intravenosa, en la que, opcionalmente:
- 20 (a) la composición farmacéutica se administra una o más veces al día, en la que, además opcionalmente:
- (i) la composición farmacéutica se administra durante un periodo de 7 días;
- 25 (ii) la hemólisis es de  $\leq 3\%$  a las 24 horas después de la última administración; o
- (iii) la actividad del complemento es de  $\leq 5\%$  a las 24 horas después de la última administración;
- 30 (b) el porcentaje de inhibición de hemólisis es de desde al menos el 90% hasta el 95% o más en el plazo de 3 horas después de una primera administración;
- (c) el porcentaje de inhibición de hemólisis es de desde al menos el 90% hasta el 95% o más tal como se mide al menos 7 días tras la administración;
- 35 (d) el porcentaje de inhibición de hemólisis es de desde al menos el 90% hasta el 95% o más durante al menos 4 días después de la administración; o
- (e) la inhibición máxima de hemólisis y/o inhibición máxima de actividad del complemento se logra desde 2 horas después de la administración hasta 4 horas después de la administración, en la que, además opcionalmente, el polipéptido se administra a una dosis de 0,2 mg/kg.
- 40 9. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 8, apartado (a)(i), en la que actividad del complemento se reduce hasta de desde el 1% hasta el 10% durante dicho periodo de 7 días.
- 45 10. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 3, apartado (d), en la que la concentración sérica máxima ( $C_{\text{máx}}$ ) lograda es de desde 0,1  $\mu\text{g/ml}$  hasta 1000  $\mu\text{g/ml}$ ; o el área bajo la curva (AUC) es de desde 200  $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$  hasta 10,000  $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ .
- 50 11. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, para su uso en un método de tratamiento de hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) en un sujeto que lo necesita que comprende la administración subcutánea o intravenosa de la composición farmacéutica.
- 55 12. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 11, en la que el sujeto se ha tratado previamente con un agente terapéutico basado en anticuerpo, en la que, opcionalmente, dicho agente terapéutico basado en anticuerpo es eculizumab.
- 60 13. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 12, en la que la HPN en el sujeto era resistente o no respondía al tratamiento con dicho agente terapéutico basado en anticuerpo, en la que, opcionalmente, dicho agente terapéutico basado en anticuerpo es eculizumab.
- 65 14. Kit que comprende la composición farmacéutica según de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, e instrucciones de uso de la misma.
15. Dispositivo autoinyector que comprende la composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1-2.

Fig. 1

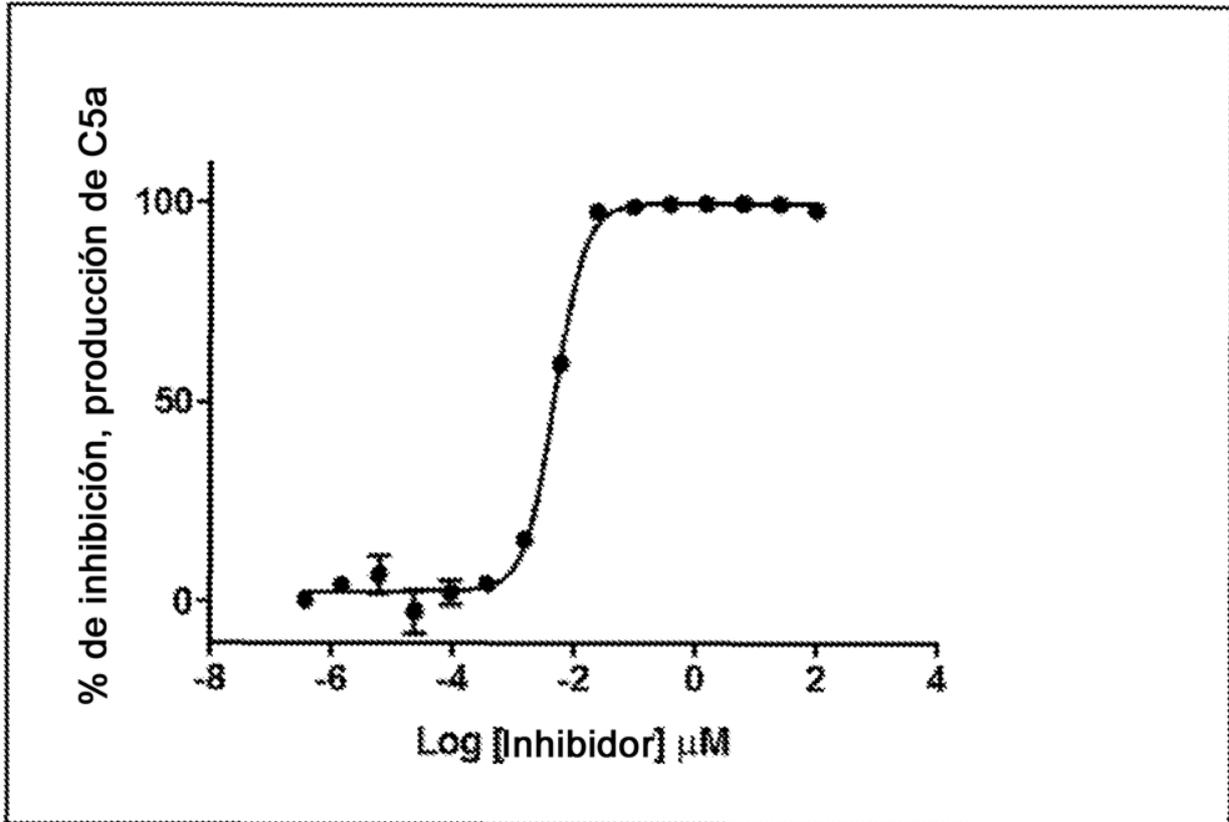


Fig. 2

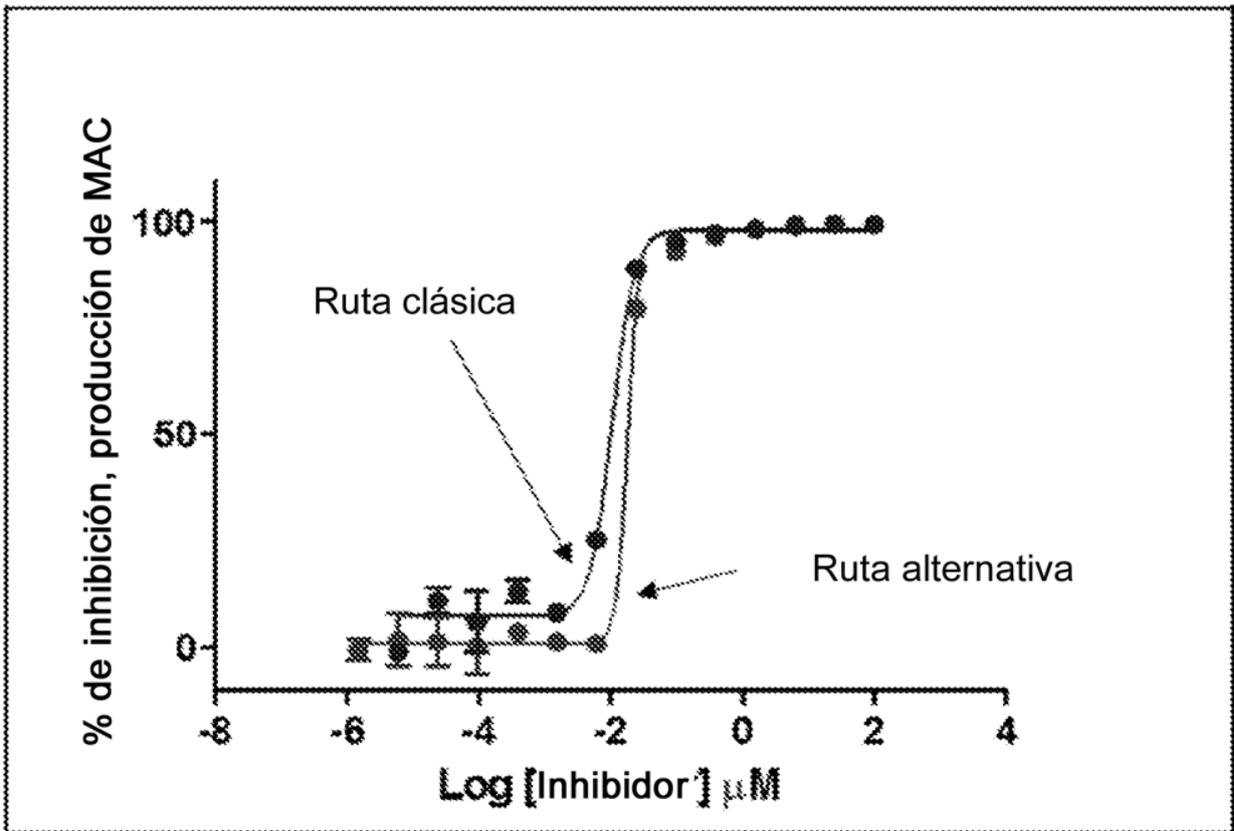
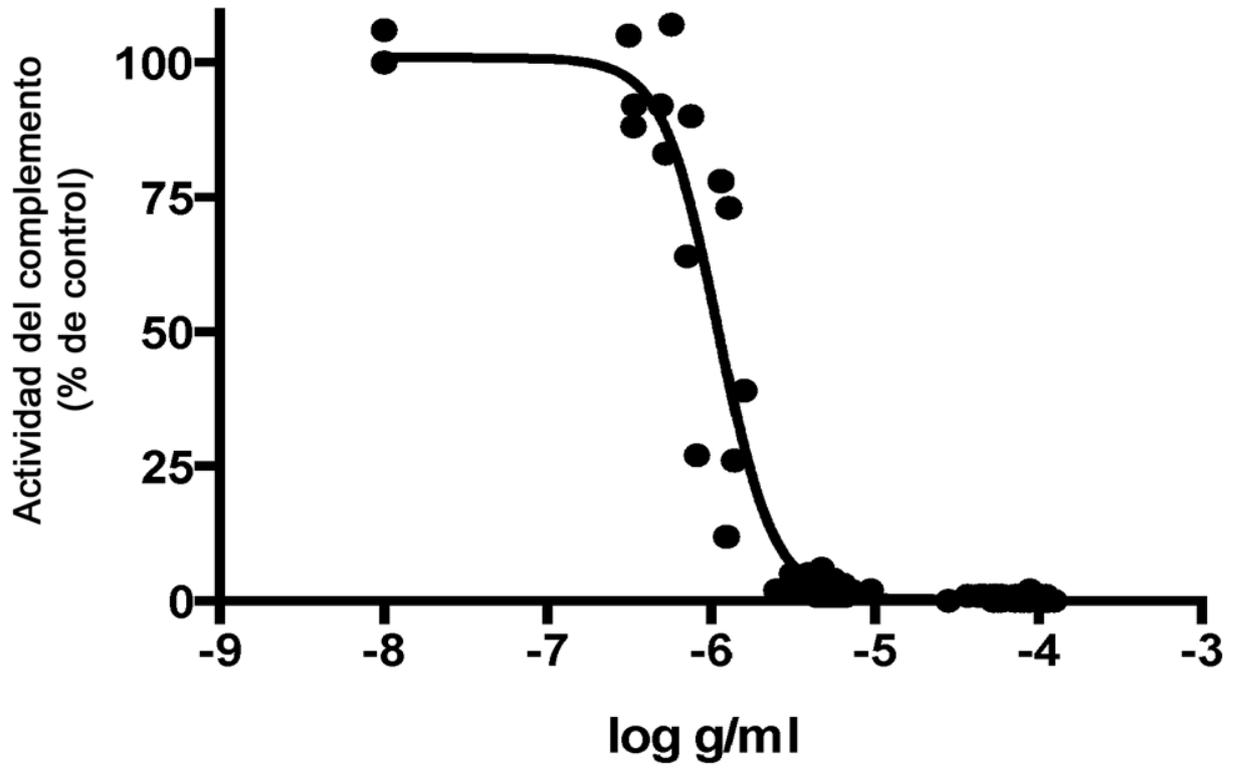


Fig. 3



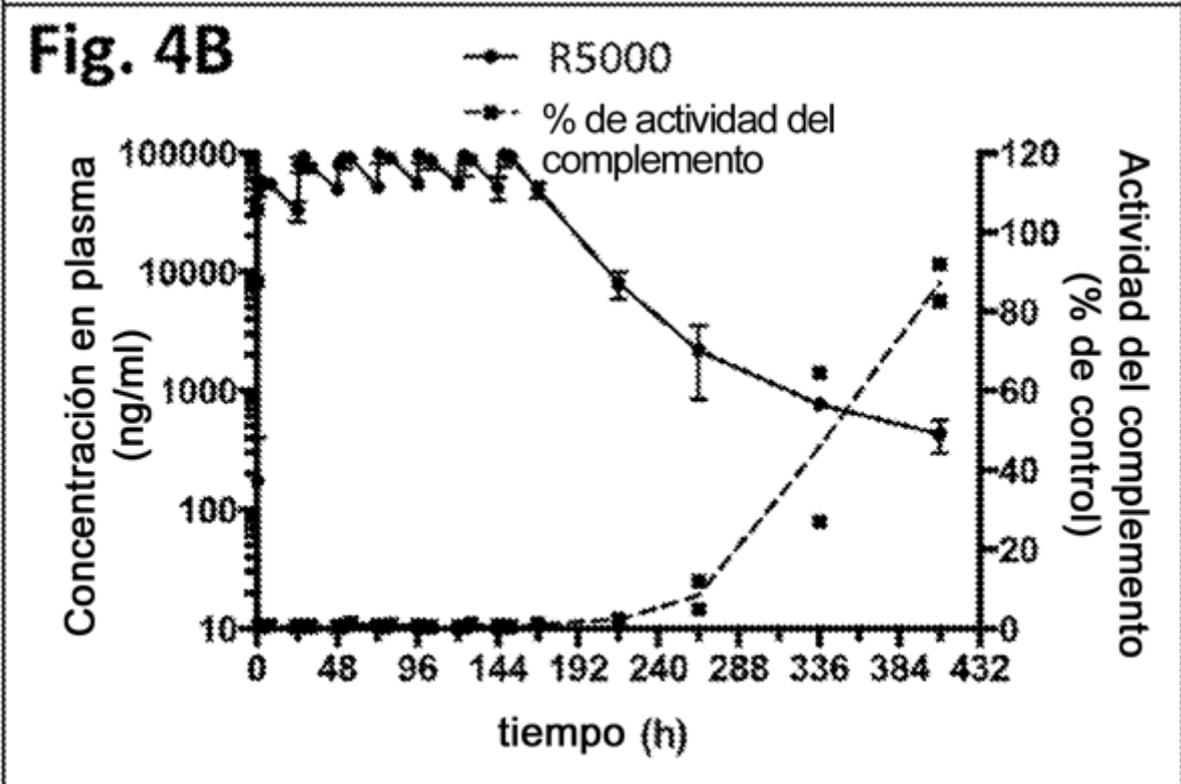
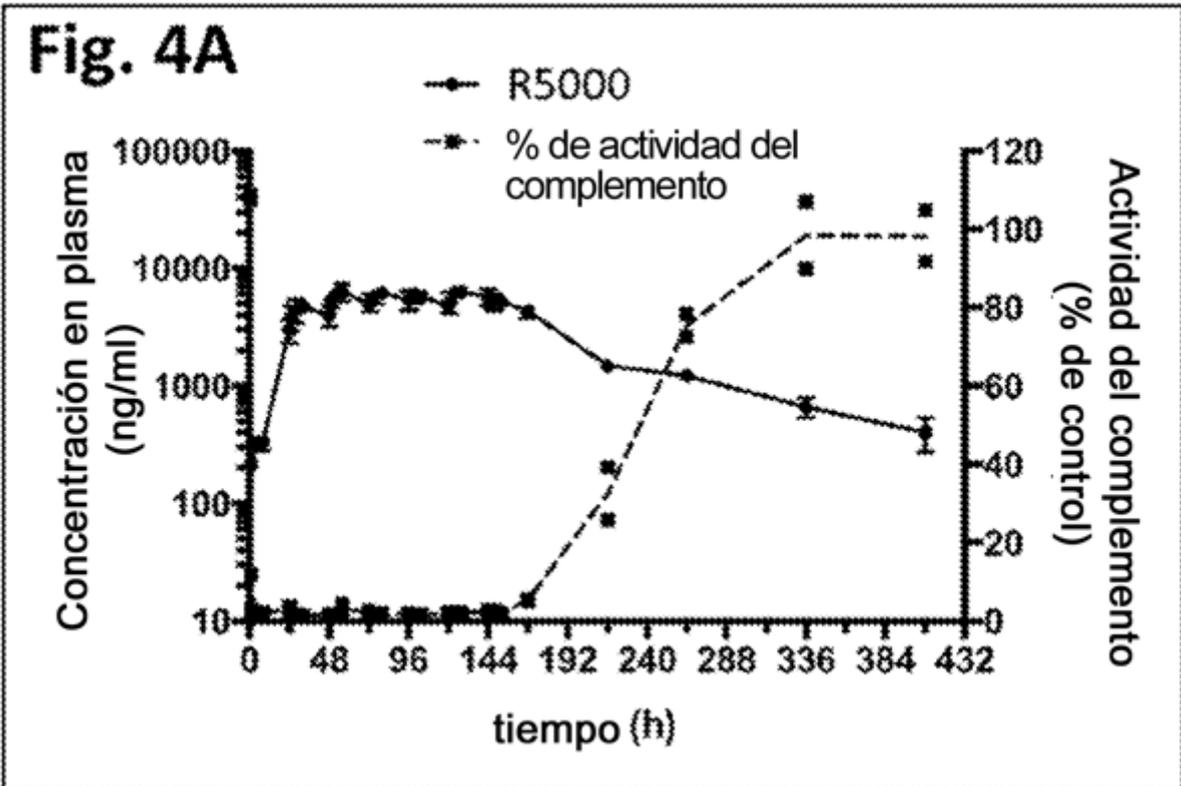


Fig. 5A

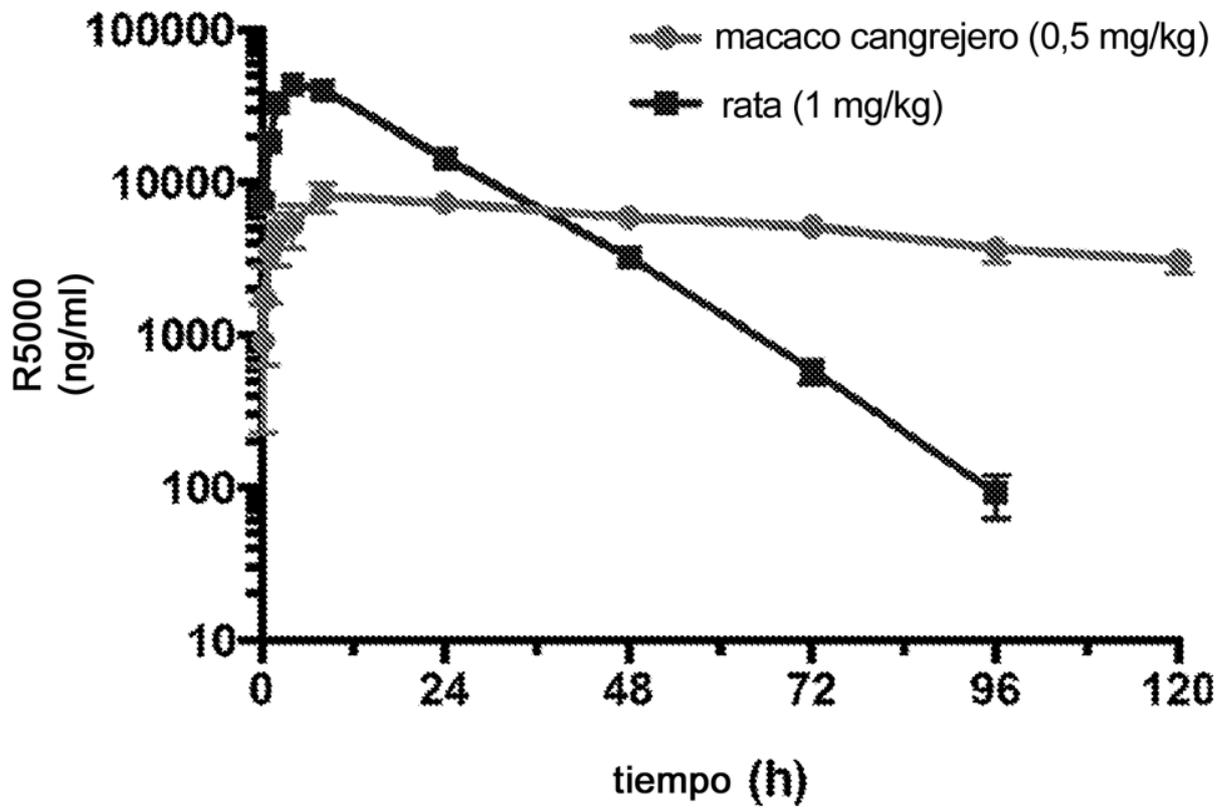


Fig. 5B

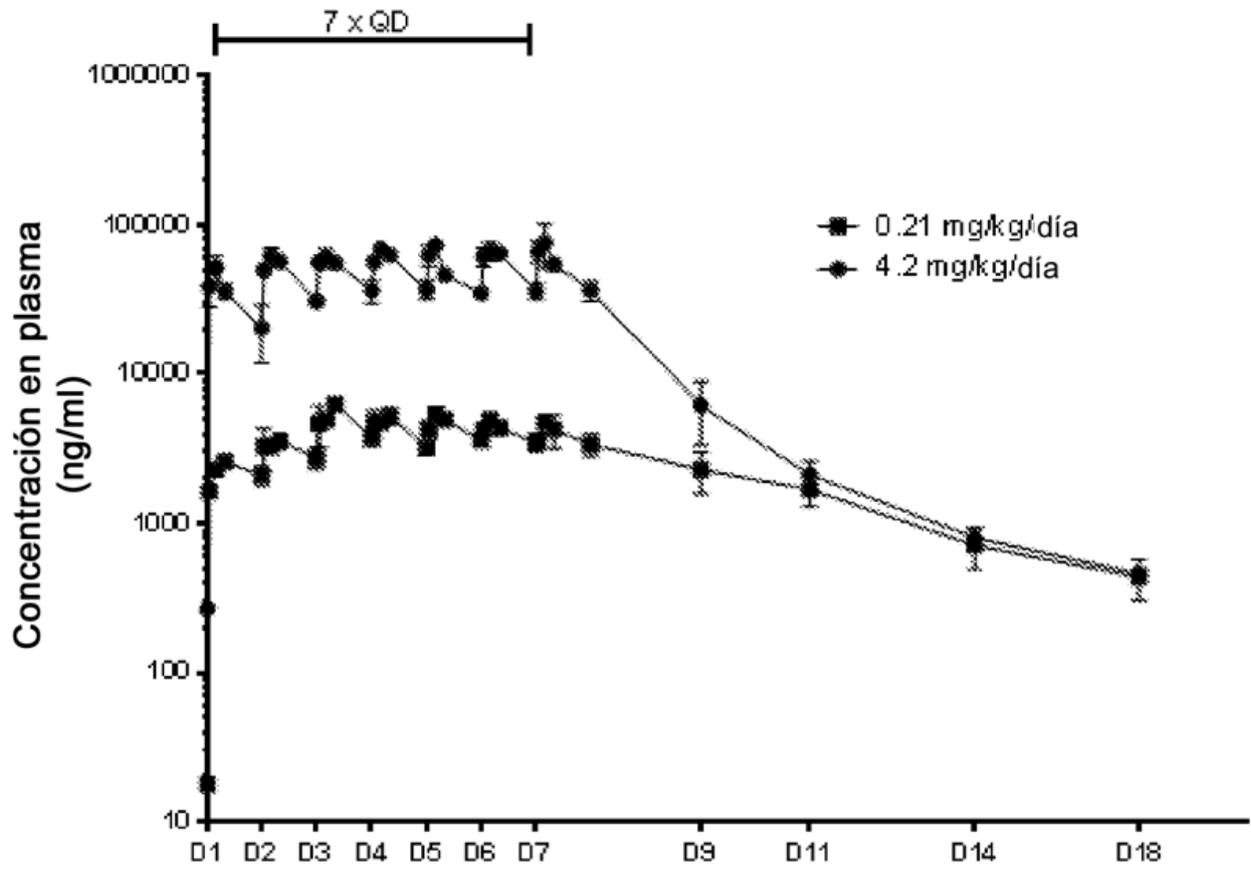


Fig. 6

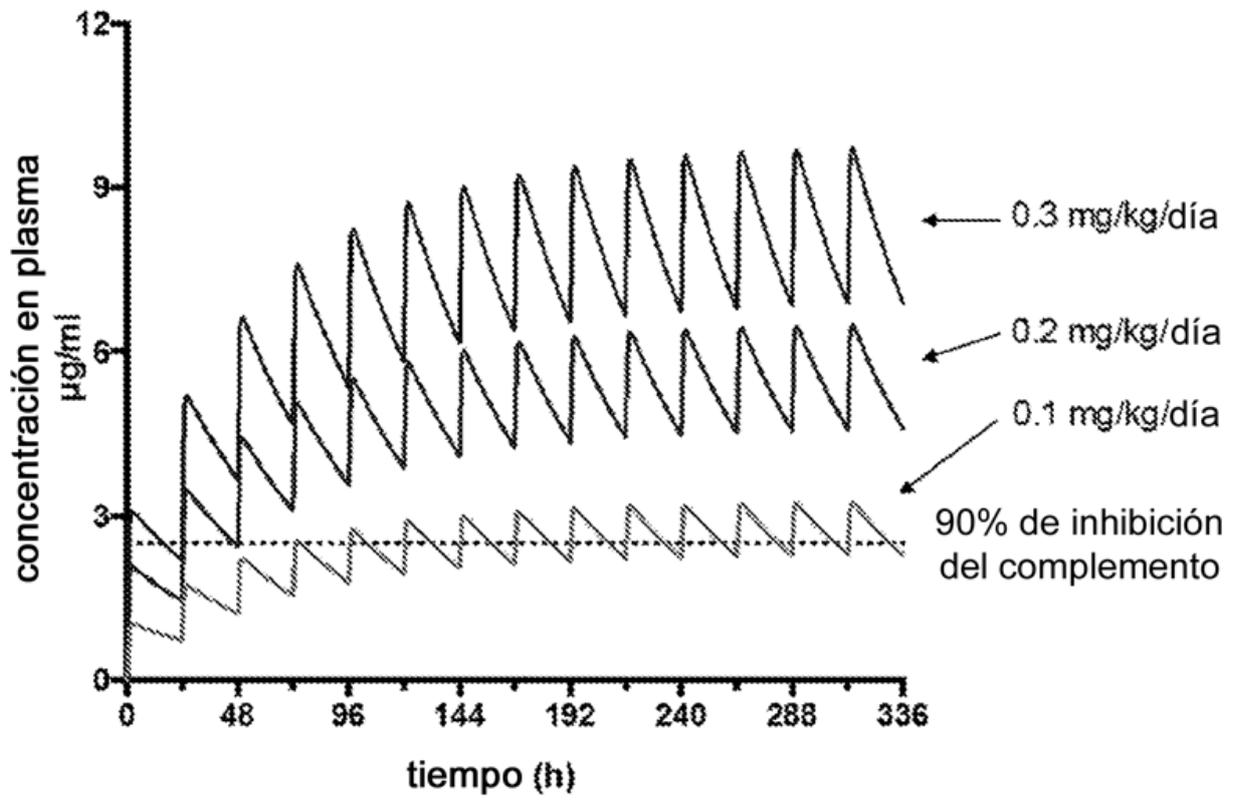


Fig. 7

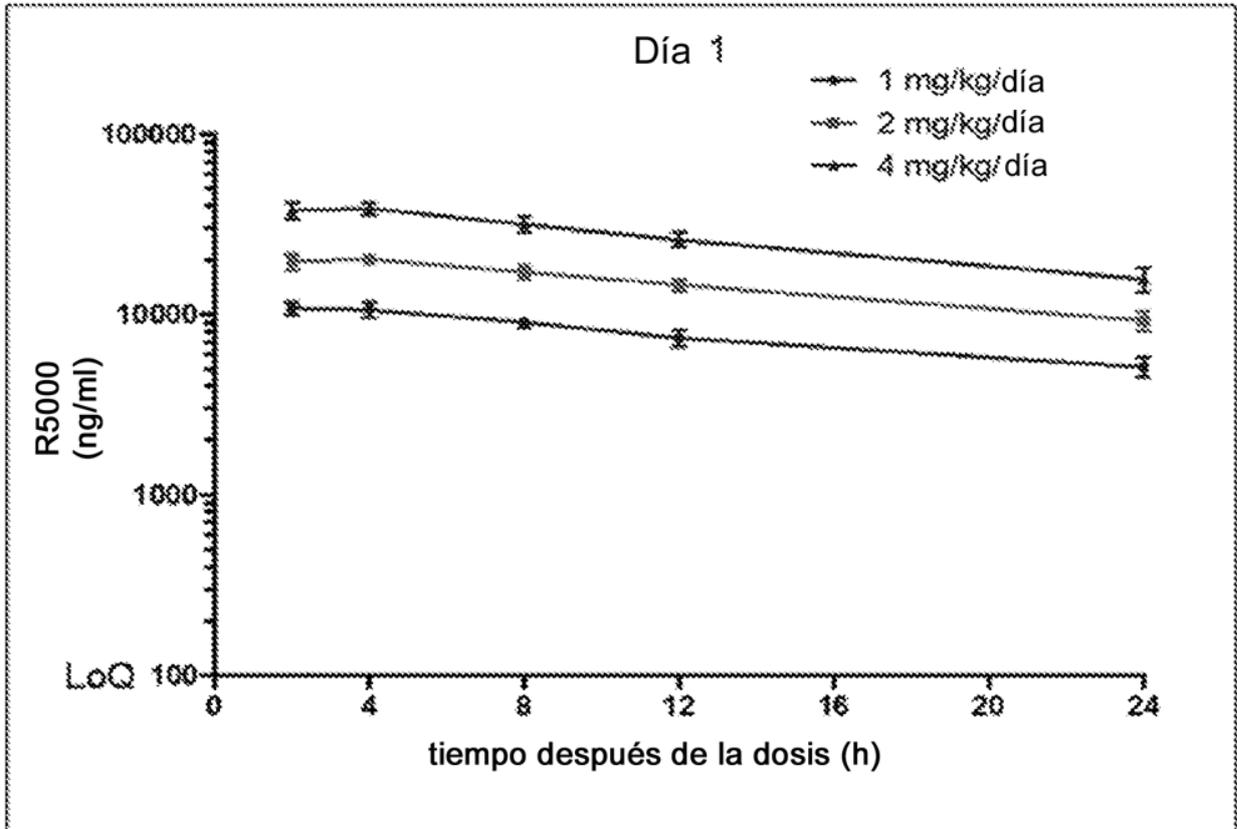


Fig. 8

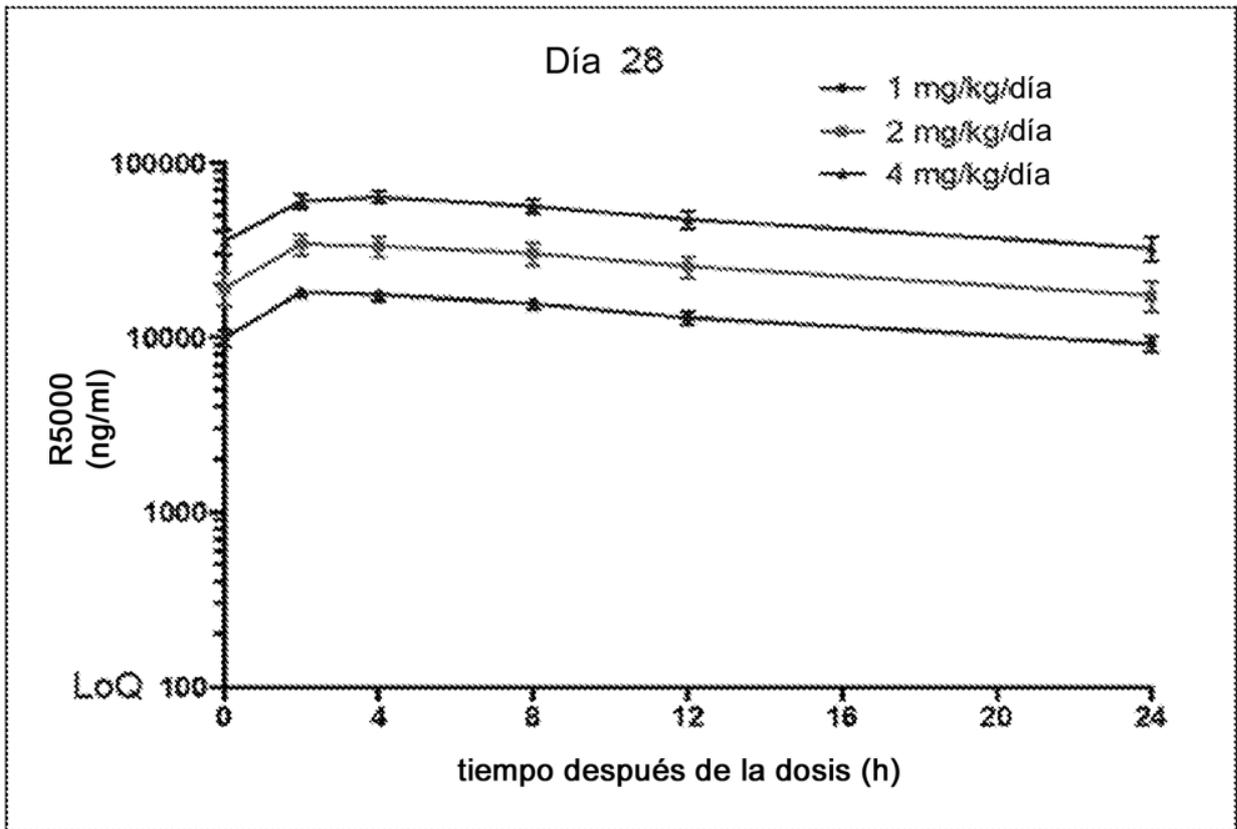


Fig. 9A

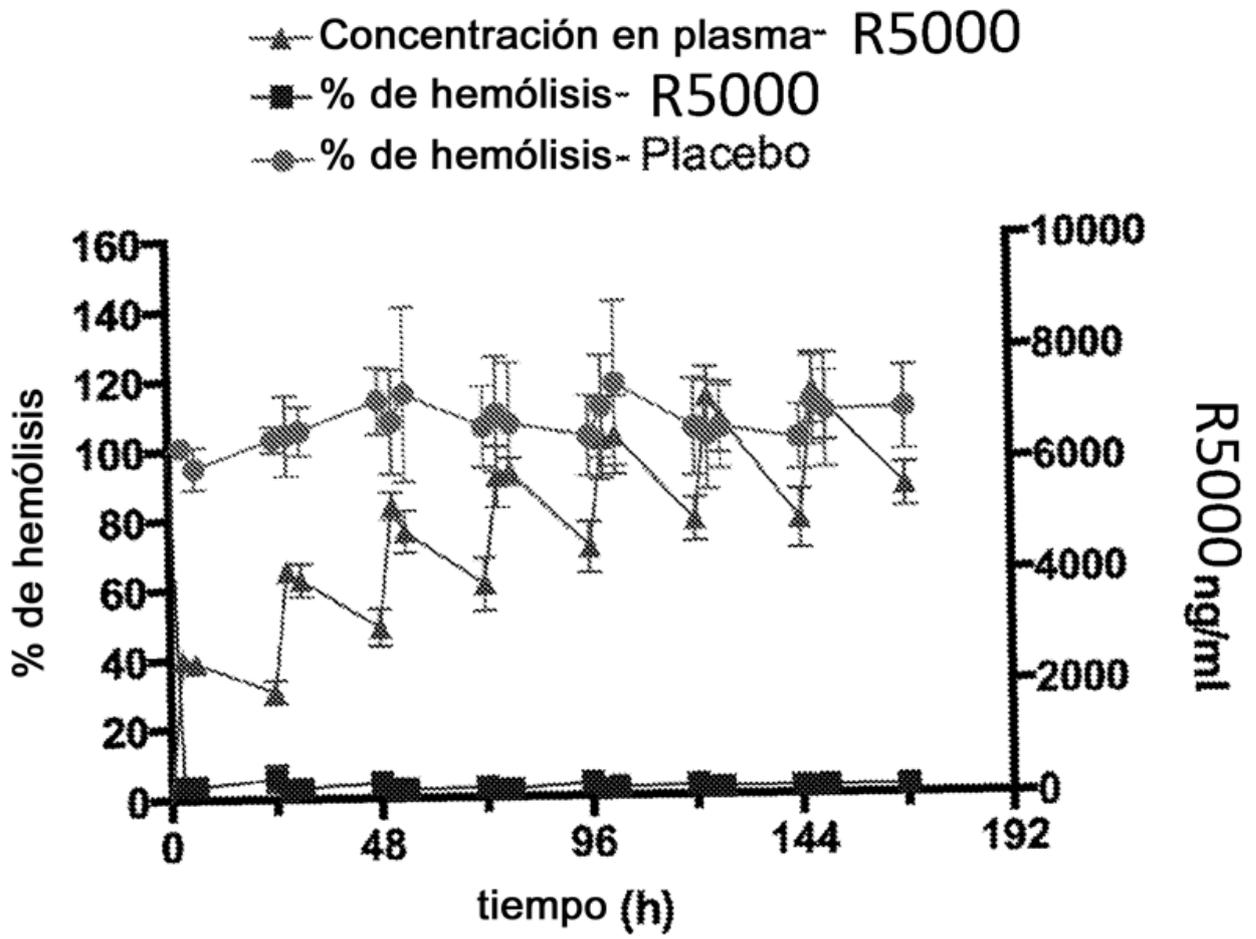


Fig. 9B

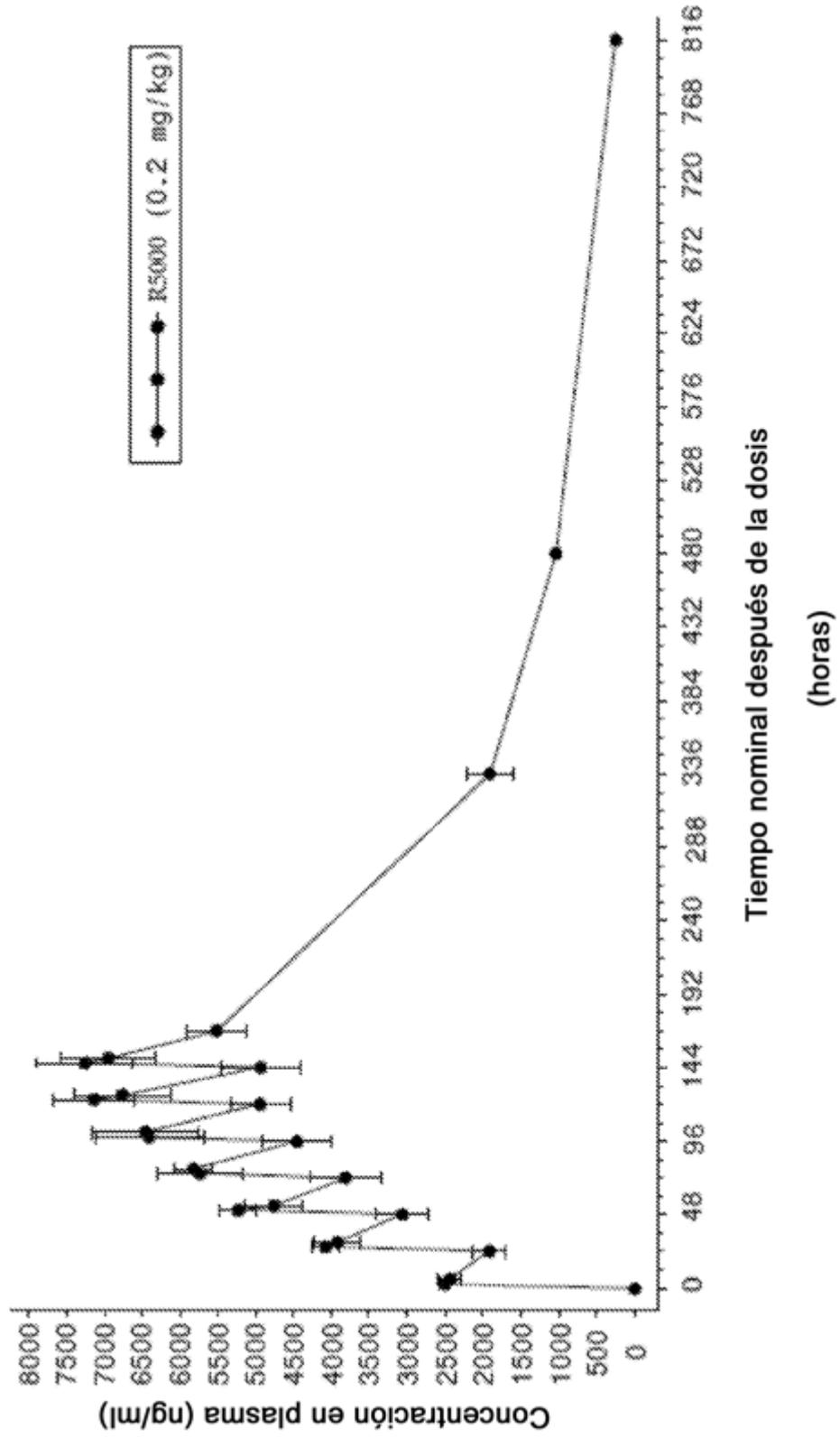


Fig. 10A

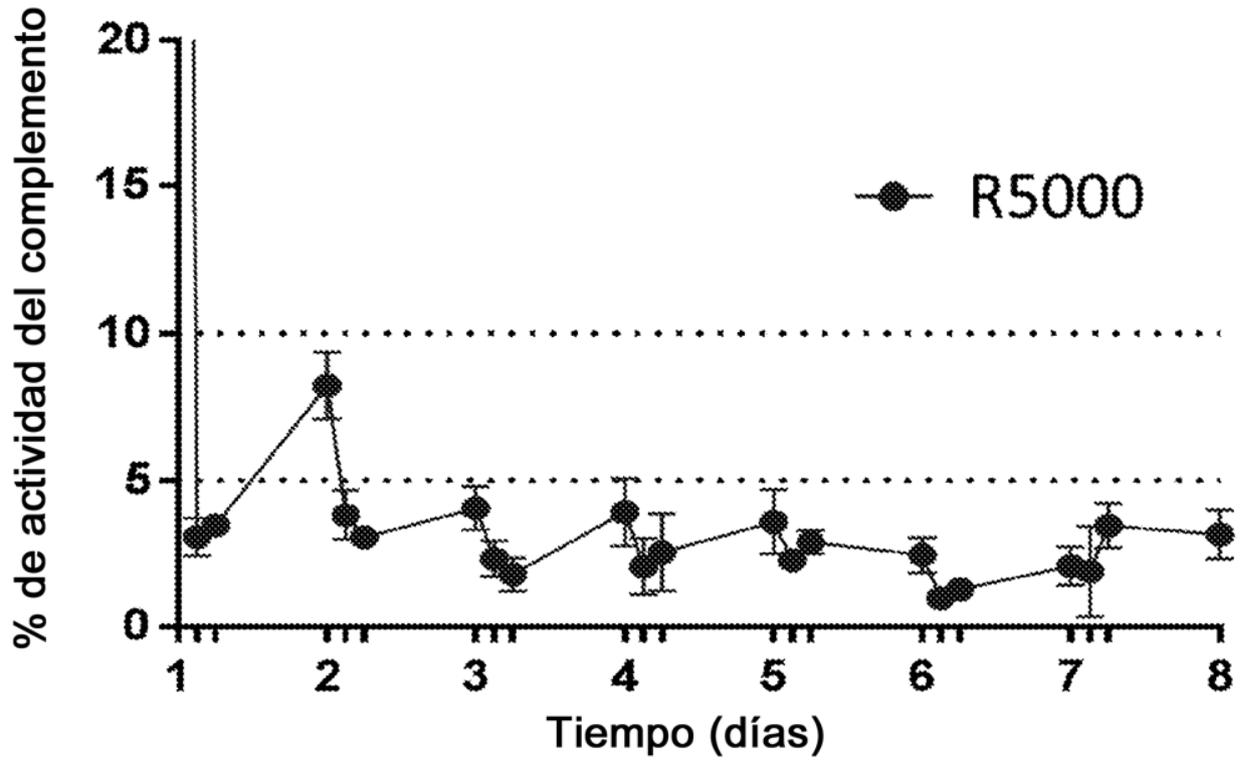


Fig. 10B

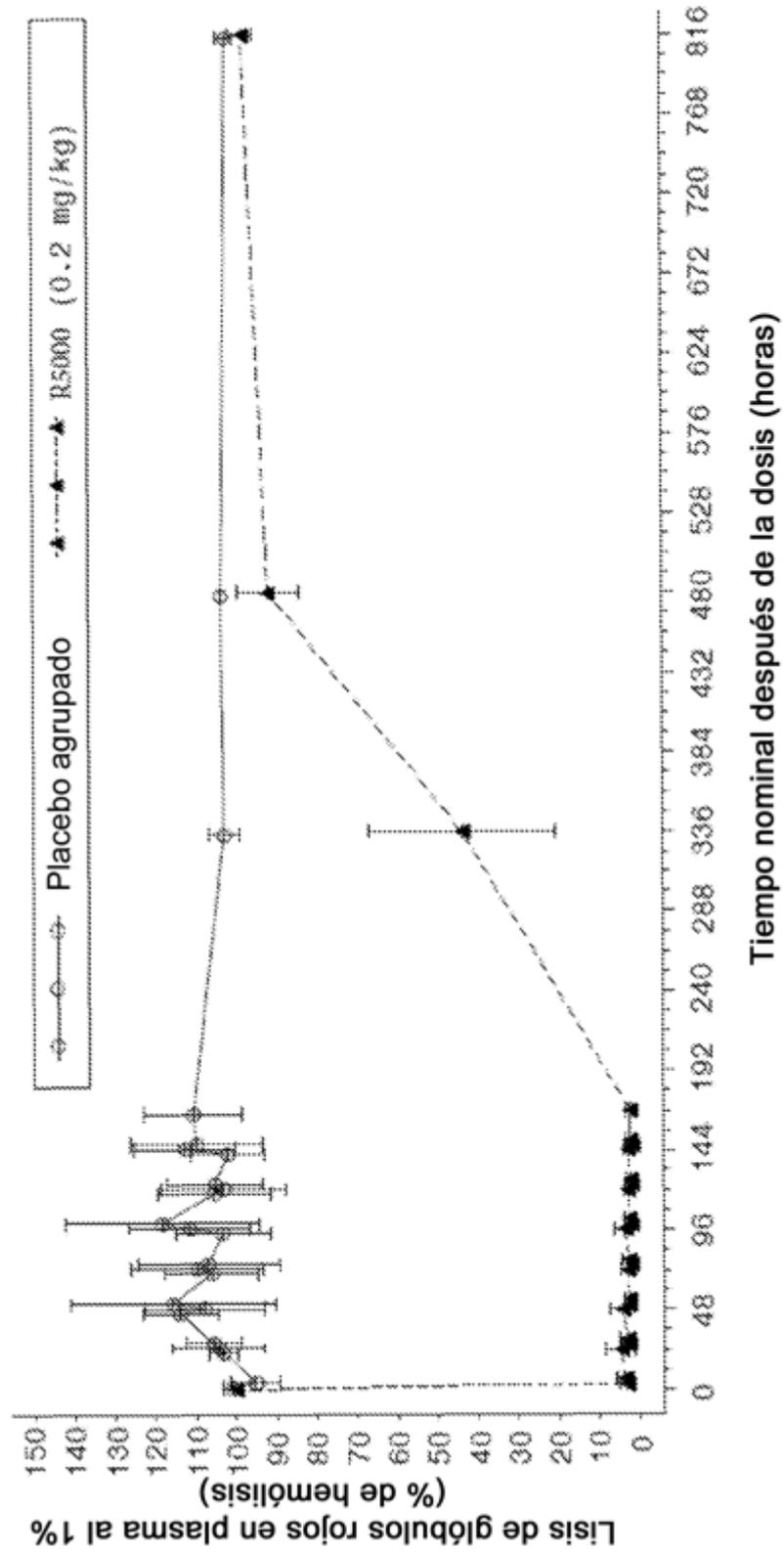


Fig. 11A

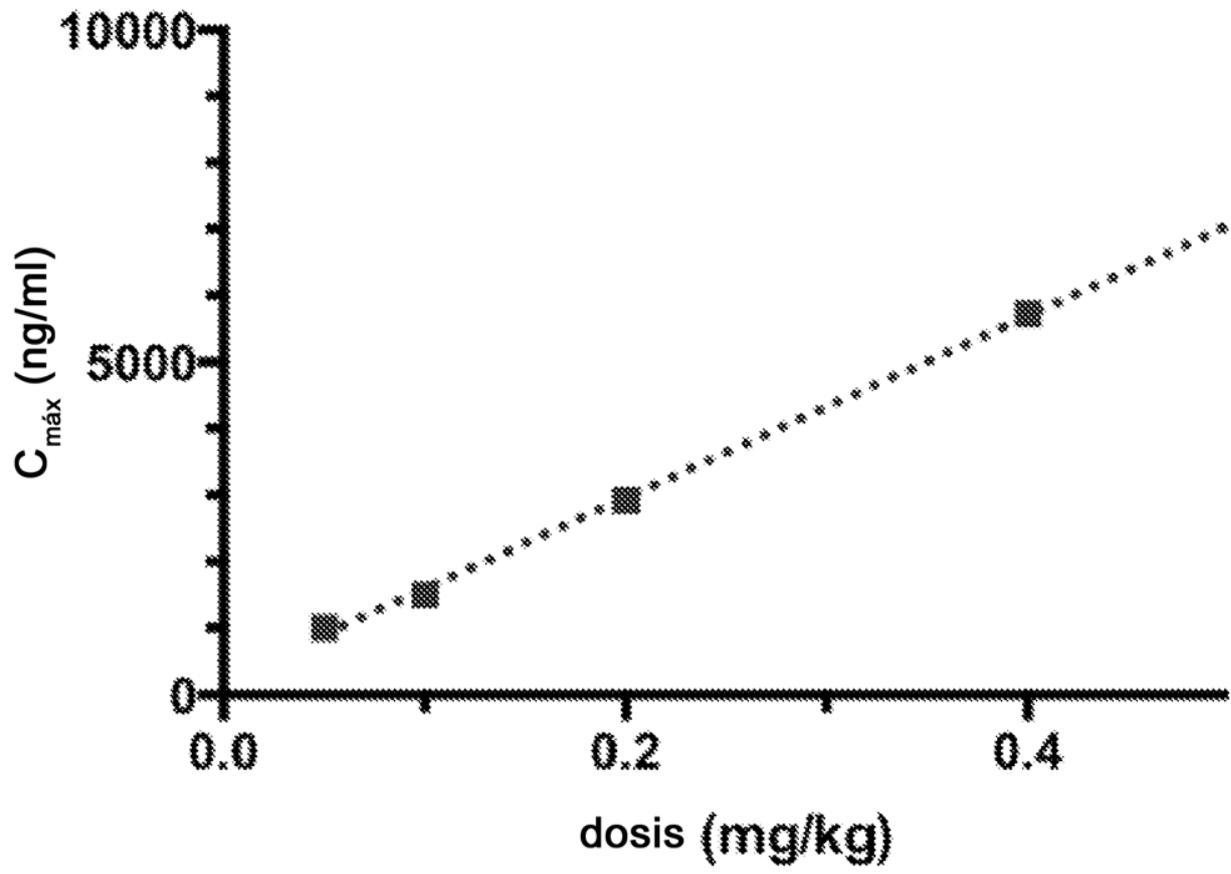
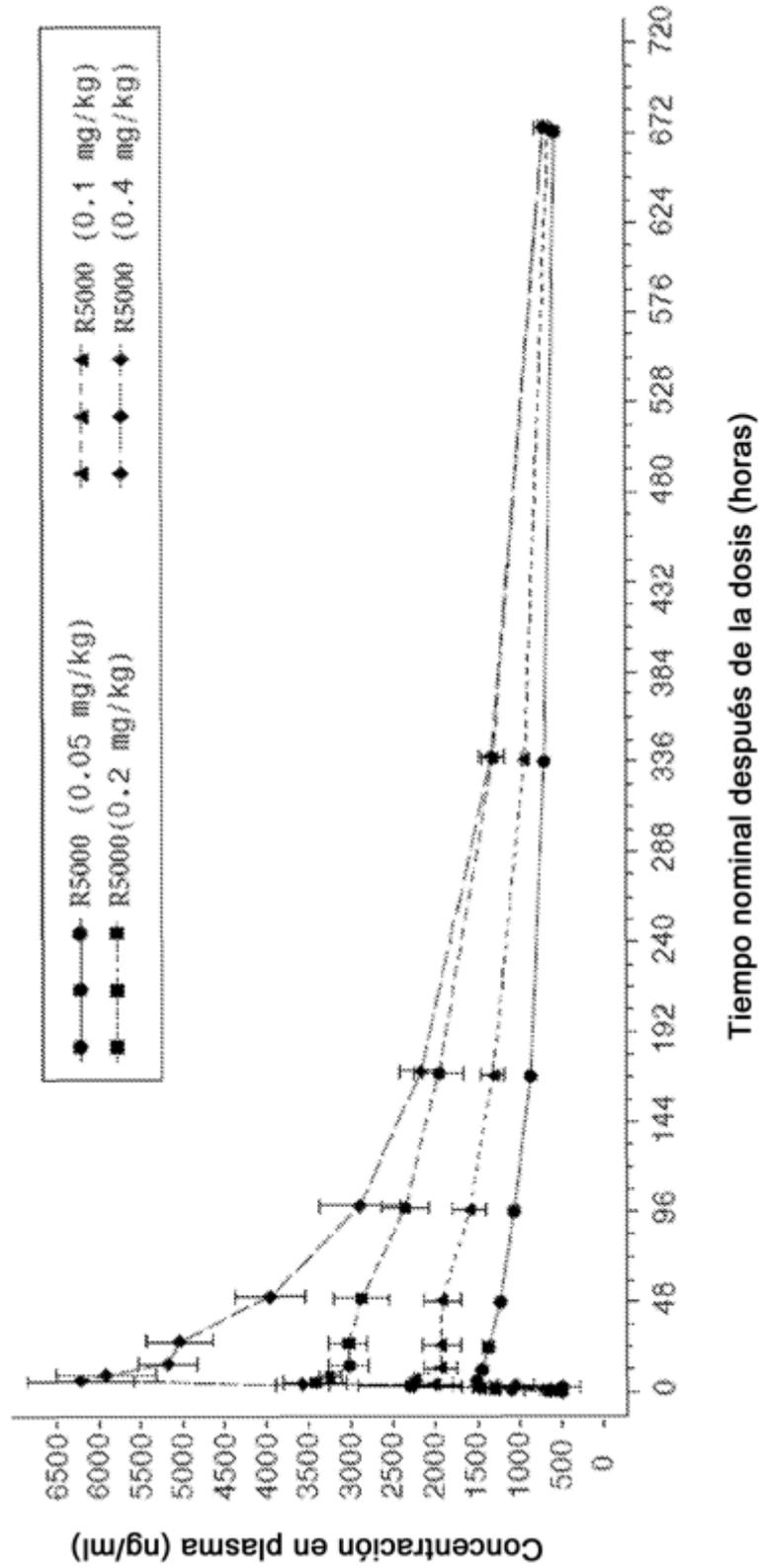


Fig. 11B



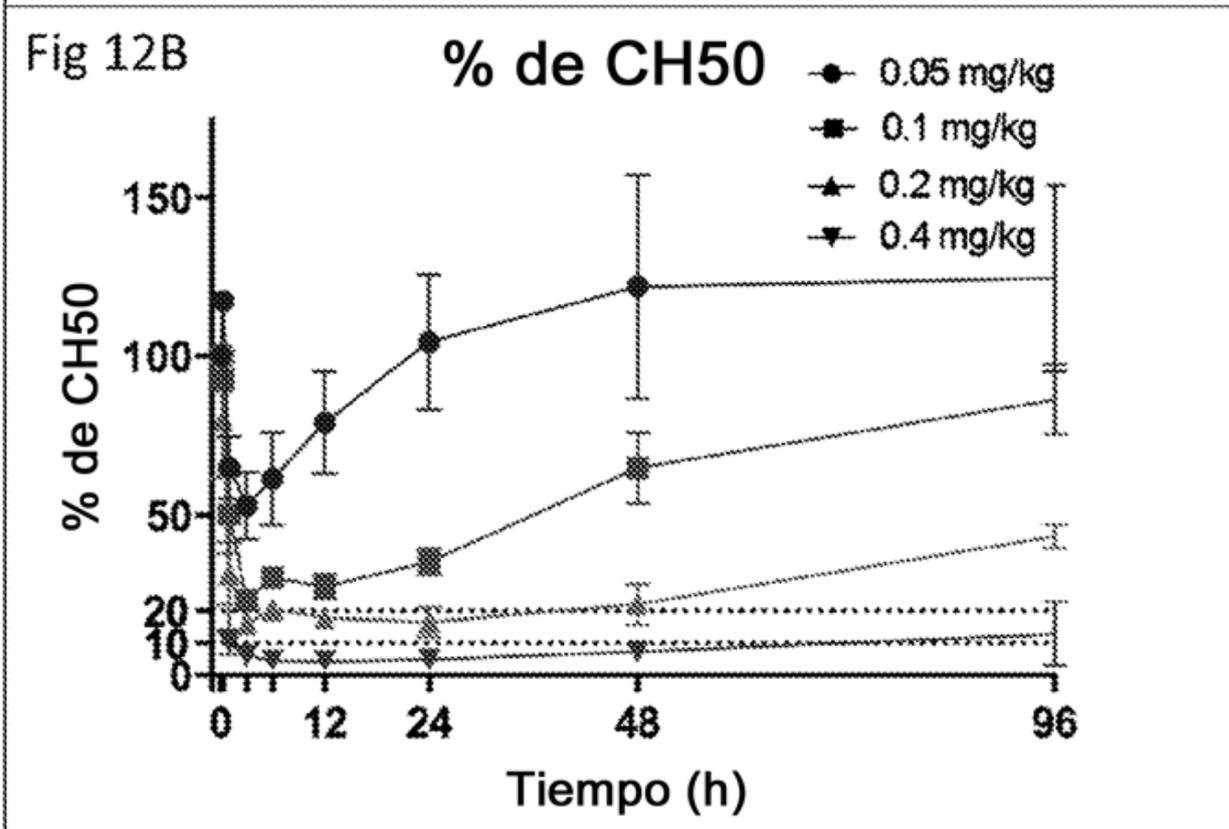
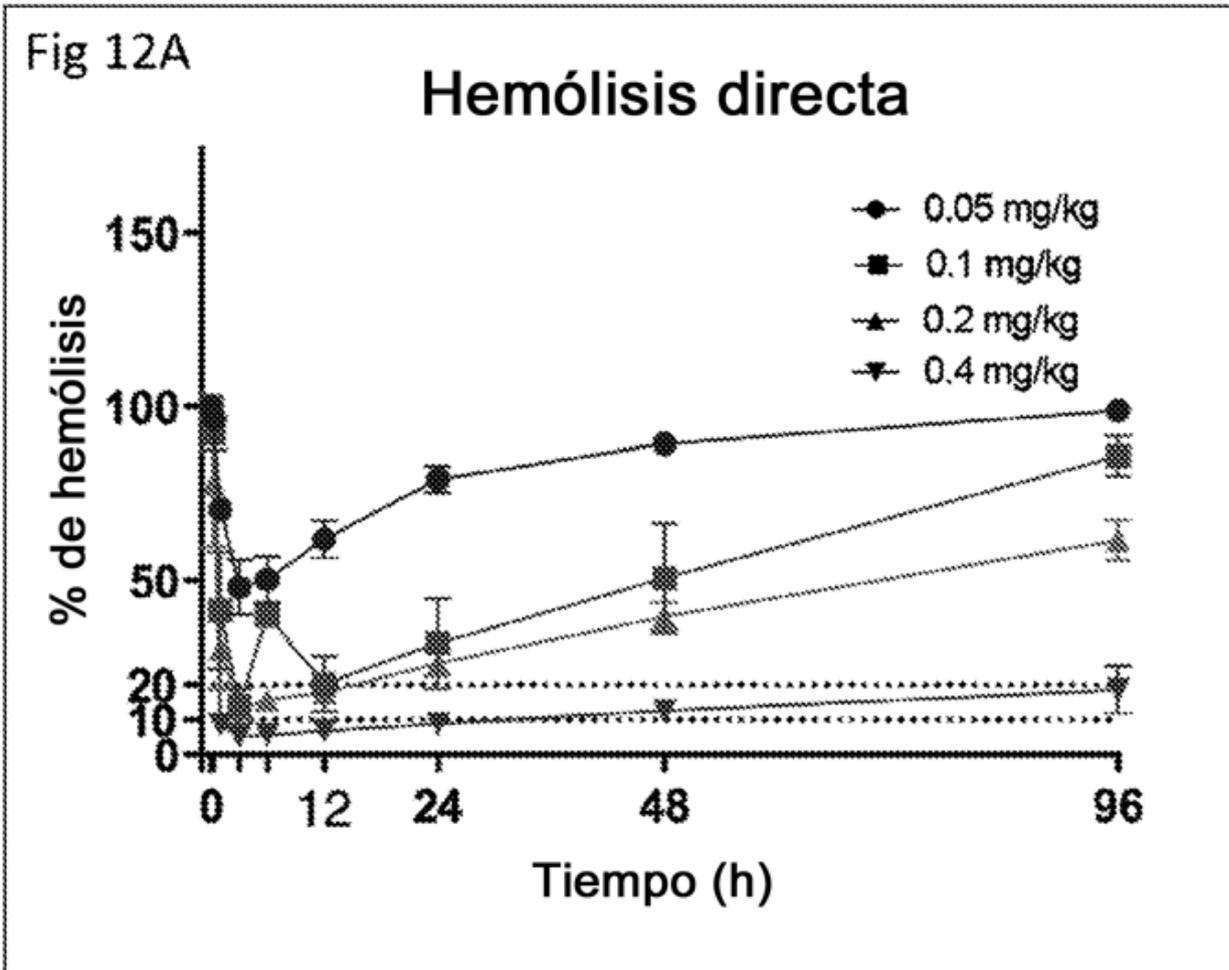


Fig. 12C

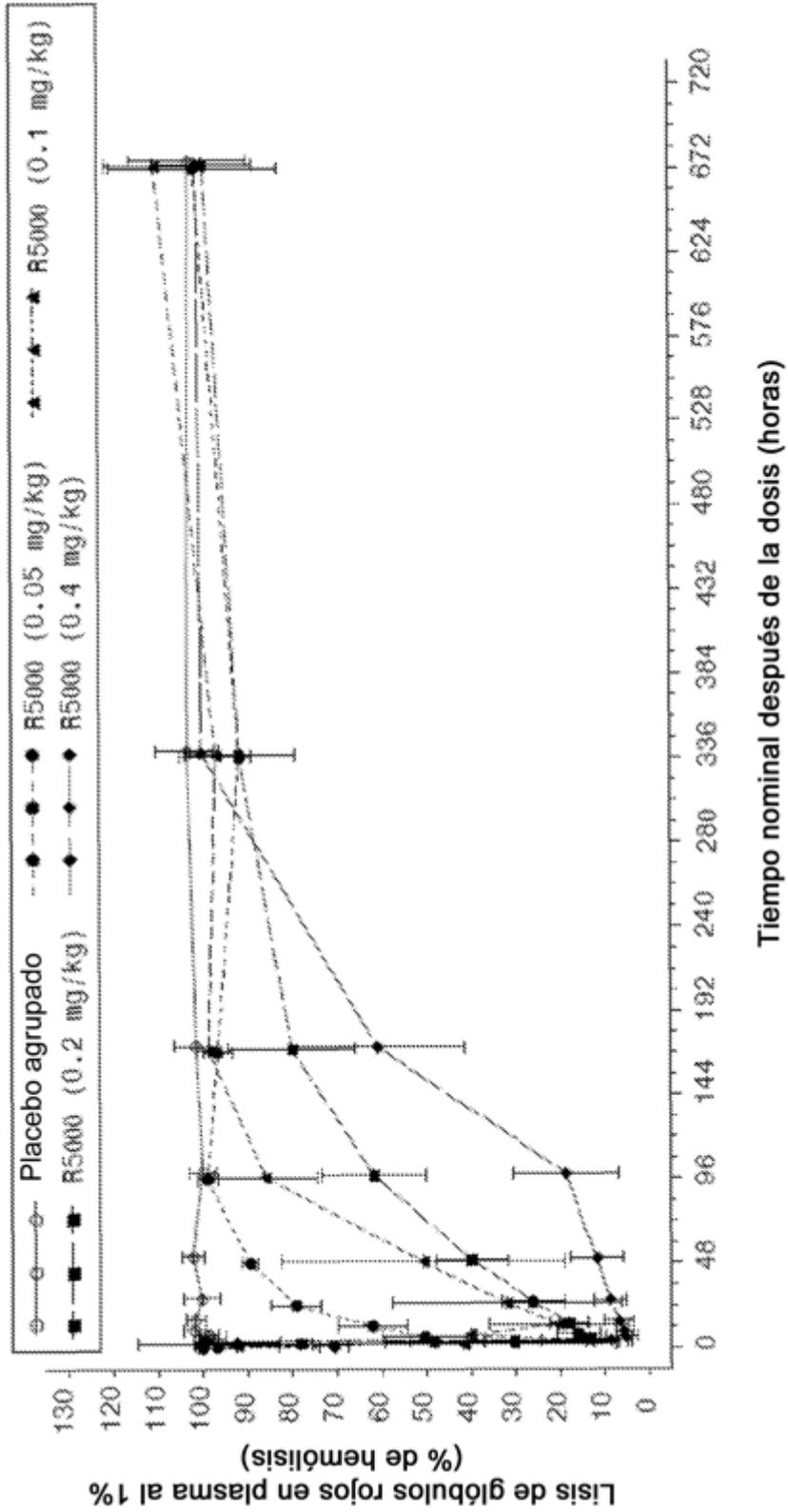


Fig. 13

