

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 785 043**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.12.2007 PCT/CU2007/000021**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.07.2008 WO08077355**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.12.2007 E 07855983 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.03.2020 EP 2119452**

54 Título: **Composición farmacéutica, que comprende un anticuerpo monoclonal anti-cd6 usado en el diagnóstico y tratamiento de la artritis reumatoide**

30 Prioridad:

26.12.2006 CU 20060250

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

05.10.2020

73 Titular/es:

**CENTRO DE INMUNOLOGIA MOLECULAR
(100.0%)**

**Calle 216 esq. 15, Atabey Playa, Ciudad de la
Habana, AP. 16040**

Ciudad de la Habana 12100, CU

72 Inventor/es:

**MONTERO CASIMIRO, JOSÉ ENRIQUE;
CASACO PARADA, ÁNGEL RAIMUNDO;
MAZORRA HERRERA, ZAIMA;
ALONSO RAMIREZ, RUBY y
PEREZ RODRIGUEZ, ROLANDO**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 785 043 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

Composición farmacéutica, que comprende un anticuerpo monoclonal anti-cd6 usado en el diagnóstico y tratamiento de la artritis reumatoide

Campo de la invención

La presente invención se refiere a la medicina humana y especialmente a la generación de composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo monoclonal humanizado que reconoce el antígeno de diferenciación de leucocitos CD6, y particularmente a formulaciones terapéuticas que contienen un anticuerpo monoclonal humanizado que reconoce el antígeno de diferenciación de leucocitos CD6 capaz de inducir un efecto terapéutico duradero en pacientes con artritis reumatoide.

Descripción de la técnica anterior

Las enfermedades autoinmunitarias y particularmente, La artritis reumatoide (AR) tiene diferentes estrategias disponibles con fines terapéuticos, asociados a sus mecanismos inmunopatológicos conocidos (Smolen, JS et al. (2003) Nature Reviews Drug Discovery 2:473; Feldmann, M. et al. (2005) Nature 435:612). Sin embargo, no existe un tratamiento para la artritis reumatoide que administrado durante un período corto de tiempo pueda inducir una respuesta clínica duradera (Garber, K. (2005) Nature Biotechnology 23(11):1323).

Actualmente hay varias bioterapias disponibles para el tratamiento de pacientes con enfermedades autoinmunitarias y particularmente para la terapia de pacientes con artritis reumatoide, aunque su efecto clínico como monoterapias es muy limitado (Olsen, N.J. et al. (2004) N Engl J Med 350:2167). Por otra parte, las terapias combinatorias de agentes biológicos con metotrexato pueden inducir la remisión clínica en el 30 - 40 % de los pacientes con artritis reumatoide, pero la enfermedad sigue siendo significativamente activa en la mayoría de los pacientes a pesar del tratamiento y rara vez se producen remisiones completas (Pincus, T. et al. (1999) Ann Intern Med 131:768; Olsen, N.J. et al. (2004) N Engl J Med 350:2167). Adicionalmente, se han descrito eventos adversos múltiples y graves para tales aproximaciones terapéuticas (O'Dell, J.R. (2004) N Engl J Med 350:2591).

Los anticuerpos monoclonales (mAb) son agentes biológicos utilizados en el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias (Feldmann, M. et al. (2005) Nature 435:612). En particular, los anticuerpos monoclonales que agotan la capacidad de agotar las células autorreactivas son de interés médico debido a la consideración de que se requiere un agotamiento prolongado de los linfocitos para inducir un efecto terapéutico en pacientes con enfermedad autoinmunitaria, tales como la artritis reumatoide (Edwards, J.C. et al. (2004) N Engl J Med 350:2572; Stohl, W. et al. (2006) Clinical Immunology 121:1; Browning, J.L. (2006) Nature Reviews Drug Discovery 5:564). Esta inmunosupresión inducida por el agotamiento de linfocitos es un mecanismo común de efecto terapéutico para varias opciones terapéuticas en enfermedades autoinmunitarias (Kahan, B.D. (2003) Nature Reviews Immunology 3:831). No obstante, los efectos terapéuticos son limitados y están asociados a eventos adversos significativos (Edwards, J.C. et al. (2004) N Engl J Med 350:2572; Hale, D.A. (2004) Current Opinion Immunology 16:565; Goldblatt, F. et al. (2005) Clinical and Experimental Immunology 140:195).

En consecuencia, una mejor comprensión de las moléculas y los mecanismos implicados en la fisiopatología de las enfermedades autoinmunitarias y particularmente en la artritis reumatoide, debería dar lugar al descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas donde la terapia prevista cambie de la eliminación de células autorreactivas a la inducción o la restauración del mecanismo de tolerancia e inmunorregulación en el paciente (Taylor, P.C. et al. (2004) Current Opinion Pharmacology 4:368; Feldmann, M. et al. (2005) Nature 435:612). El antígeno de diferenciación de leucocitos CD6 es una molécula que todavía no se ha estudiado y caracterizado bien. El CD6 es una glucoproteína de superficie expresada principalmente en linfocitos T y en una subpoblación menor de linfocitos B en sangre periférica de individuos normales. Sin embargo, el origen y la caracterización funcional en estas células son muy limitados. Básicamente, se considera que el CD6 en estas células es un receptor con función co-estimuladora, pero el mecanismo es desconocido (Aruffo, A. et al. (1997) Immunol Today 18(10):498; Patel, D.D. (2000) J Biol Regul Homeost Agents 2000 14(3):234). Su expresión en timocitos maduros se ha asociado al proceso de maduración de linfocitos en este órgano linfoide (Singer, N.G. et al. (2002) Int Immunol. 14(6):585).

El modelo CD6 ha sido de interés terapéutico y se ha reivindicado que el mecanismo de acción para los anticuerpos monoclonales anti-CD6 se basa en su capacidad para inhibir y modular la unión de CD6 a su ligando llamado ALCAM (Molécula de Adhesión de Leucocitos Activados, del inglés "Activated Leukocyte Adhesion Molecule") (Patente de EE.UU. 6372215). En consecuencia, esos anticuerpos monoclonales se consideran útiles para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, pero las evidencias terapéuticas en pacientes basadas en tal reivindicación no están sustancialmente documentadas.

La molécula CD6 es reconocida por el anticuerpo monoclonal de ratón ior-t1. Las formulaciones terapéuticas de este anticuerpo monoclonal murino tienen efecto terapéutico en la psoriasis (Montero, E. et al. (1999) Autoimmunity 29(2):155). Posteriormente, basado en métodos de ingeniería genética (Patente N.º 0699755 E.P. Bul.) se obtuvo una versión humanizada de este anticuerpo monoclonal anti-CD6 humano de ratón designado T1h (documento EP 0 807

125 A2).

La novedad de esta invención se basa en la generación de formulaciones terapéuticas que contienen anticuerpos monoclonales anti-CD6 para su uso en pacientes con enfermedad autoinmunitaria y particularmente, en pacientes con artritis reumatoide. Sorprendentemente, la administración del anticuerpo monoclonal T1h humanizado durante 6 semanas como monoterapia, en pacientes con enfermedad autoinmunitaria y particularmente en pacientes con artritis reumatoide con una evolución prolongada y en fase activa de la enfermedad, induce un efecto terapéutico duradero que dura meses después de finalizar la administración del tratamiento, sin eventos adversos significativos. Este efecto no está asociado al agotamiento de las células CD6+ porque la recuperación al valor normal de esa subpoblación celular no impide una mejora clínica persistente de la enfermedad. El anticuerpo monoclonal T1h humanizado no inhibe la unión de CD6 a ALCAM, efecto que se reivindicó previamente para las terapias en este modelo terapéutico, indicando su potencial asociación a un mecanismo alternativo. Adicionalmente, el tratamiento con T1h puede sensibilizar las células autoinmunitarias al efecto de los agentes antiinflamatorios, esteroides o quimioterapias como metotrexato, lo que puede dar lugar al uso combinatorio del anticuerpo monoclonal humanizado T1h con otros fármacos u otras bioterapias.

Descripción detallada de la invención.

La presente invención se refiere a formulaciones terapéuticas de anticuerpos monoclonales que reconocen el antígeno humano CD6, eficaces en el tratamiento de pacientes con enfermedades autoinmunitarias. Más particularmente, la presente invención comprende el uso de composiciones farmacéuticas que contienen el anticuerpo monoclonal humanizado T1 h, que reconoce el antígeno de diferenciación de leucocitos humanos CD6 y su uso para el diagnóstico y el tratamiento de la artritis reumatoide.

Es un objeto de la presente invención una formulación terapéutica que contiene el anticuerpo monoclonal humanizado T1 h, que induce un efecto terapéutico de larga duración en pacientes con artritis reumatoide por el reconocimiento de la molécula CD6. La frase "anticuerpo monoclonal humanizado" se refiere a un anticuerpo monoclonal obtenido por métodos de ingeniería genética como se describe en la patente N.º 0699755 (E.P. Bul).

1. - La generación de composiciones farmacéuticas contiene el anticuerpo T1 h monoclonal humanizado anti-CD6 humano.

La composición farmacéutica de la presente invención contiene un anticuerpo monoclonal humanizado T1h que reconoce el antígeno de diferenciación de leucocitos humanos CD6. El anticuerpo monoclonal humanizado CD6 antihumano T1h se obtiene del hibridoma secretor IOR-T1A con N.º de depósito ECACC 96112640, como se describe en el documento (EP 0 807 125 A2). Adicionalmente, esta composición contiene como un excipiente apropiado una solución tamponada fisiológica, similar a otras usadas para la formulación de anticuerpos monoclonales para uso intravenoso, como se describe en el documento EP 0807125. La composición de la presente invención se administra en forma de inyecciones en un intervalo de dosis de 0,05 a 1 mg/kg de peso corporal.

2. - Caracterización del efecto terapéutico de las composiciones farmacéuticas que contienen el anticuerpo T1 h monoclonal humanizado anti-CD6 humano.

Pacientes con artritis reumatoide diagnosticados de acuerdo con los criterios convencionales y en una fase activa de la enfermedad, resistente a las terapias convencionales, tales como los fármacos antiinflamatorios, esteroides o agentes quimioterapéuticos (por ejemplo: Metotrexato) son susceptibles a la administración del anticuerpo monoclonal humanizado T1h como monoterapia o en combinación con fármacos antiinflamatorios, esteroides, agentes quimioterapéuticos, por ejemplo: Metotrexato) o anticuerpos monoclonales específicos para moléculas de superficie de linfocitos T y B (por ejemplo: CD20) o citocinas (por ejemplo: factor de necrosis tumoral alfa). El anticuerpo monoclonal humanizado T1h puede administrarse como una solución parenteral en un intervalo de dosis de acuerdo con el peso corporal del paciente, con una frecuencia variable de administración que puede comprender un periodo de administración diario, semanal o más largo. El efecto terapéutico se evalúa mediante la reducción de la actividad clínica de la enfermedad, de acuerdo con los criterios convencionales anteriores, durante y después de terminar el tratamiento.

3. - Caracterización del efecto sobre las células mononucleares de sangre periférica de composiciones farmacéuticas que contienen el anticuerpo monoclonal humanizado T1 h.

Las células mononucleares de sangre periférica de pacientes con artritis reumatoide se incuban con un anticuerpo monoclonal anti-CD3 o anti-CD6 conjugado con biotina o sustancias fluorescentes (por ejemplo: FITC, PE o PE-Cy5). La unión de anticuerpos biotinilados se detecta con un conjugado estreptavidina, PE-Cy5.5. Se adquieren al menos 10 000 células vivas en un citómetro de flujo FACScan. Las células muertas se excluyen con la tinción de yoduro de propidio.

4. - Caracterización de la capacidad de las composiciones farmacéuticas que contienen el anticuerpo monoclonal humanizado T1h para inhibir la unión de CD6 a su ligando ALCAM.

La línea celular epitelial humana HEK-293 transfectada con la molécula humana CD6 se incubó con concentración saturada del anticuerpo monoclonal anti-CD6 humano T1h o un control de isotipo, un anticuerpo anti-CD3 humano durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavan y se incuban con 0,5 µg/ml de la proteína de fusión rhAL-CAM-Fc (ALCAM es un ligando de CD6) durante 30 min a 4 °C. Después, las muestras se tiñen con un anticuerpo FITC anti-IgG humana conjugado durante 30 min a 4 °C. Se adquieren diez mil células vivas en un citómetro de flujo FACScan. Las células muertas se excluyen con la tinción de yoduro de propidio.

Ejemplos:

El anticuerpo monoclonal humanizado CD6 antihumano T1h se obtuvo del hibridoma IOR-T1A con N.º de depósito ECACC 96112640, como se describe en el documento EP 0 807 125 A2.

Ejemplo 1: El anticuerpo monoclonal humanizado T1h induce un efecto terapéutico de larga duración en pacientes con artritis reumatoide.

El efecto terapéutico del anticuerpo monoclonal humanizado T1h se evaluó o evaluó en 13 pacientes con artritis reumatoide. Los pacientes recibieron una dosis semanal del anticuerpo monoclonal humanizado T1h durante 6 semanas en un intervalo de dosis de 0,2, 0,4, 0,6 y 0,8 mg/kg de peso corporal. El efecto terapéutico se evaluó mediante la reducción de la actividad clínica de la enfermedad, considerando el número de articulaciones afectadas de acuerdo con los criterios convencionales anteriores, durante y después de terminar el tratamiento. Cada curva representa los valores medios del porcentaje de mejora del signo o síntoma clínico por grupo de pacientes de acuerdo con la dosis administrada.

Ejemplo 2: El tratamiento con el anticuerpo monoclonal humanizado T1h reduce transitoriamente el número de células mononucleares de sangre periférica de pacientes con artritis reumatoide.

Se analizaron células mononucleares de sangre periférica de pacientes con artritis reumatoide tratados con el anticuerpo monoclonal humanizado T1h. Se determinó la expresión de la molécula CD3, como un marcador distintivo de linfocitos T, así como la molécula CD6. El tratamiento con anticuerpo monoclonal humanizado T1h induce una reducción transitoria de los linfocitos CD3+ y CD6+. Sin embargo, una recuperación a los valores normales no influye en la mejora clínica persistente de la enfermedad. El estudio se realizó por citometría de flujo usando un FACScan para analizar las muestras. Cada curva representa los valores de pacientes individuales en diferentes puntos de tiempo.

Ejemplo 3: El anticuerpo monoclonal humanizado T1h no inhibe la unión de CD6 a su ligando ALCAM.

Se evaluó la capacidad del anticuerpo monoclonal humanizado T1h para inhibir la unión de ALCAM a la línea celular epitelial humana HEK-293, transfectada con la molécula CD6 humana. (A) Histograma rojo: reconocimiento de la proteína recombinante humana ALCAM unida a un fragmento Fc humano (rhALCAM-Fc) preincubado con los anticuerpos anti-CD6 (T1h) o anti-CD3 (control); Histograma negro: unión de rhALCAM-Fc a células no tratadas; e Histograma gris: células marcadas con el anticuerpo anti-IgG humana conjugado con FITC. Los valores medios de intensidad de fluorescencia se representan en la figura. (B) Los gráficos de puntos muestran la doble tinción para los anticuerpos rhAL-CAM-Fc y anti-CD6 o anti-CD3.

Breve descripción de las figuras.

Figura 1-

Efecto terapéutico del anticuerpo monoclonal humanizado T1h en pacientes con artritis reumatoide evaluado por la reducción del porcentaje de articulaciones inflamadas y sensibles.

Figura 2-

Cuantificación del número de linfocitos CD3+ y CD6+ en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con artritis reumatoide

Figura 3-

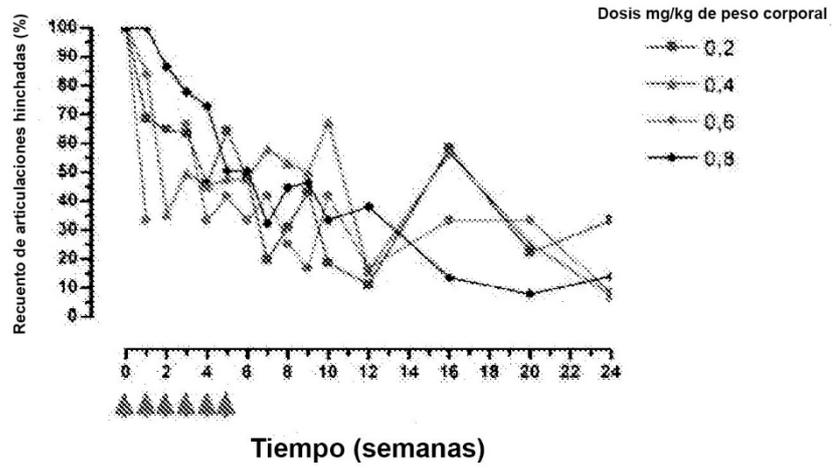
Demostración de la no inhibición de la unión de CD6 al ligando ALCAM por el anticuerpo monoclonal humanizado T1 h.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide en una fase activa de la enfermedad, resistente a las terapias convencionales, que comprende como principio activo un anticuerpo monoclonal que reconoce el antígeno de diferenciación de leucocitos humanos CD6, en donde el anticuerpo monoclonal que reconoce el antígeno de diferenciación de leucocitos humanos CD6 no inhibe la unión de CD6 a la molécula de adhesión de leucocitos activados (ALCAM), en donde dicho anticuerpo monoclonal es un anticuerpo humanizado T1 h y en donde dicho anticuerpo humanizado T1h se obtiene por métodos de ingeniería genética del hibridoma secretor TOR-T1A con N.º de depósito ECACC 96112640 y en donde el anticuerpo humanizado T1 h comprende una cadena pesada que tiene una región variable con la siguiente secuencia: Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Lys Phe Ser Arg Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Val Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Asp Tyr Asp Leu Asp Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser; y
- una cadena ligera que tiene una región variable con la siguiente secuencia: Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Ile Arg Ser Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile Tyr Tyr Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Gly Glu Ser Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala y en donde la composición se administra como una solución parenteral con una frecuencia semanal.
2. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende el anticuerpo humanizado T1h solo o en combinación con cualquiera de los agentes seleccionados del grupo que consiste en:
- un agente quimioterapéutico,
anticuerpos monoclonales específicos contra moléculas de superficie de linfocitos T y B y
una citocina.
3. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el anticuerpo monoclonal contra las moléculas de superficie de linfocitos T y B es un anticuerpo anti-CD20.
4. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el agente quimioterapéutico es metotrexato.
5. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la citocina es el factor de necrosis tumoral alfa.
6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la composición se administra a un paciente como inyecciones en un intervalo de dosis de 0,05 a 1 mg/kg de peso corporal.

Figura 1

A) Reducción del porcentaje de articulaciones hinchadas.



B) Reducción del porcentaje de articulaciones dolorosas.

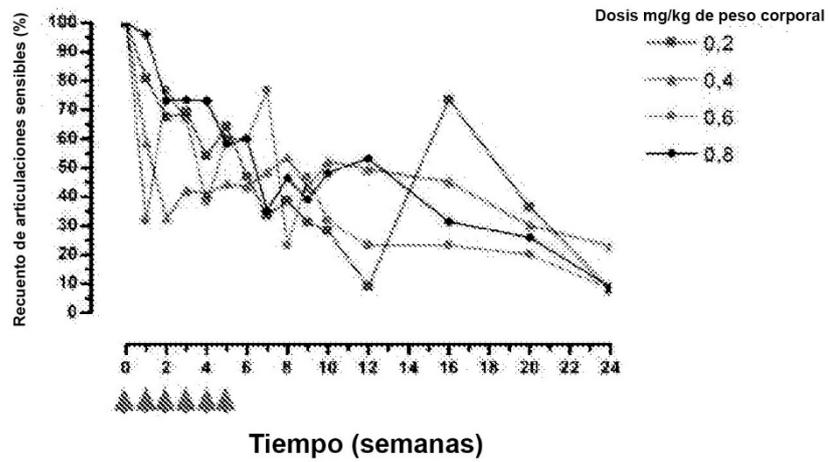
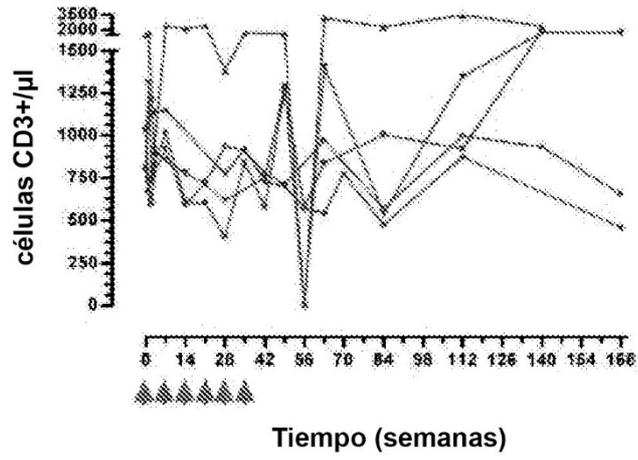


Figura 2

A) Evolución del número de linfocitos T CD3+



B) Evolución del número de linfocitos T CD6+

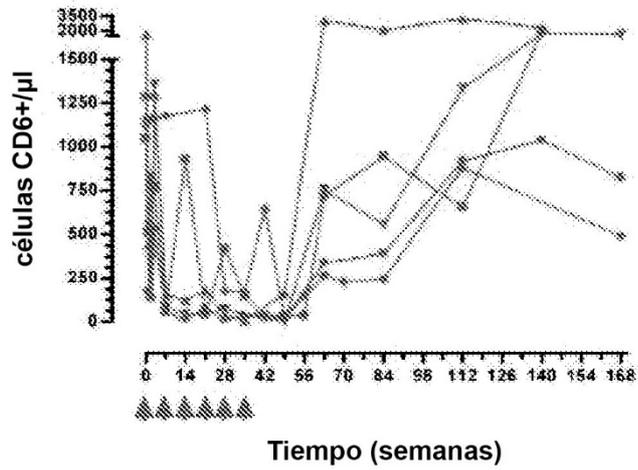


Figura 3

