



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020020118-9 A2



(22) Data do Depósito: 03/04/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 23/02/2021

(54) **Título:** COMPOSTO ANTI-CMKLR1, MOLÉCULA DE ÁCIDO NUCLEICO, VETOR, CÉLULA HOSPEDEIRA, PRODUTO DE COMBINAÇÃO, COMBINAÇÃO DE COMPOSTO, MÉTODO PARA SELECIONAR UM COMPOSTO ANTI-CMKLR1, E, COMPOSTO AGONISTA DE CMKLR1.

(51) **Int. Cl.:** C07K 16/28; A61K 39/395; A61P 29/00; A61P 35/00.

(30) **Prioridade Unionista:** 03/04/2018 EP 18305395.8.

(71) **Depositante(es):** OSE IMMUNOTHERAPEUTICS.

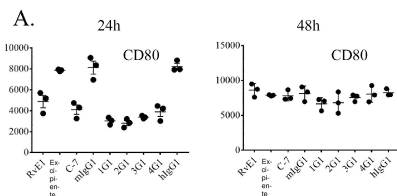
(72) **Inventor(es):** NICOLAS POIRIER; CAROLINE MARY; BERNARD VANHOVE; VANESSA GAUTTIER; CHARLÈNE TRILLEAUD; MARC DUBOURDEAU.

(86) **Pedido PCT:** PCT EP2019058358 de 03/04/2019

(87) **Publicação PCT:** WO 2019/193029 de 10/10/2019

(85) **Data da Fase Nacional:** 30/09/2020

(57) **Resumo:** A presente invenção provê compostos anti-CMKLR1 com uma capacidade agonista na interação entre Resolvina E1 e CMKLR1, e seus usos para tratar ou prevenir uma doença, em particular em que a resolução ou inflamação é atrasada ou interrompida.



COMPOSTO ANTI-CMKLR1, MOLÉCULA DE ÁCIDO NUCLEICO, VETOR, CÉLULA HOSPEDEIRA, PRODUTO DE COMBINAÇÃO, COMBINAÇÃO DE COMPOSTO, E, MÉTODO PARA SELECIONAR UM COMPOSTO ANTI-CMKLR1

Campo da invenção

[001] A invenção diz respeito ao campo da imunoterapia. A presente invenção provê novos anticorpos anti-receptor de chemerina que exibem atividade agonista sobre o receptor semelhante ao de quimiocinas-1 (quimiocina like receptor-1, CMKLR1). A presente invenção também provê usos de tal anticorpo em terapia, em particular para o tratamento de doenças autoimunes e doenças inflamatórias crônicas, doenças infecciosas, cânceres e qualquer condição em que a fase de resolução da inflamação é interrompida ou retardada.

Fundamentos da invenção

[002] O papel fundamental de processos inflamatórios na saúde e em doenças é reconhecido há tempos. Os mecanismos moleculares detalhados e eventos biológicos que regulam a progressão e a resolução da inflamação permanecem de interesse primordial. Investigações recentes forneceram forte evidência de que a resolução da inflamação não é um processo passivo, como se acreditava antes. A resolução da inflamação é, em vez disso, um processo de intensa atividade biossintética, regulado por mediadores bioquímicos e vias de sinalização de receptores. A resolução é impulsionada, portanto, por mediadores pró-resolutivos especializados. A inflamação é um mecanismo espontânea que ocorre durante uma infecção, uma lesão ou um traumatismo. A inflamação é inevitável e normalmente salutar, e sua resposta é orquestrada por um equilíbrio delicado entre alças de *feedback* positivo e negativo. A inflamação é habitualmente dividida em 3 etapas: início, amplificação e resolução.

[003] A etapa de início é distinguida por vasodilatação de vasos

sanguíneos. Células residentes (Células dendríticas (DCs) e Macrófagos) reconhecem o patógeno que está infectando o corpo ou os sinais de perigo. Essa etapa induz a secreção de citocinas, quimiocinas e a produção de mediadores lipídicos pró-inflamatórios denominados Prostaglandinas (PG) e leucotrienos. As quimiocinas voltam à circulação sanguínea e induzem o recrutamento de participantes celulares da imunidade inata. A etapa de amplificação começa com o recrutamento de células de inflamação do sistema imune. Os primeiros participantes recrutados são os Polimorfonucleares (PMN). Durante a fase celular, os PMN reconhecem o patógeno e são encarregados de sua eliminação. Outras células deslocam-se até o sítio inflamado para ajudar os PMN, tais como as DCs e os macrófagos pró-inflamatórios M1. As DCs seguem na circulação sanguínea e atingem o linfonodo para ativar a imunidade adaptativa. Linfócitos T e B chegam ao sítio da inflamação e erradicam as células infectadas. Quando o patógeno é eliminado completamente, torna-se primordial parar a inflamação para evitar que a inflamação crônica fique patogênica para o organismo. Para isso, ocorre um mecanismo ativo, denominado Resolução da inflamação. Resolução é, consequentemente, descrita como a última etapa da inflamação.

[004] O processo de resolução que permite encerrar a resposta inflamatória é um processo complexo envolvendo o engajamento sequencial e cronológico de efetores celulares (p. ex., granulócitos ou macrófagos) e químicos (p. ex., citocinas ou mediadores ou fatores pró-resolutivos especializados).

[005] Um defeito na resolução pode resultar em penetração aumentada de granulócitos no sítio inflamatório (medida, por exemplo, pela histologia, citometria ou técnicas bioquímicas indiretas tais como quantificação de elastase por imunoensaio enzimático ou quantificação molecular por PCR do receptor de granulócitos-1), um atraso na apoptose de tais células (medido, por exemplo, por citologia utilizando anticorpos

específicos contra anexina 5). Um defeito na resolução da inflamação pode também resultar na síntese sustentada ou aumentada de citocinas pró-inflamatórias tais como TNF-alfa, IL8 ou IL12 e diminuição de citocinas anti-inflamatórias tais como IL-10 (medido por imunoensaio enzimático ou por PCR), ativação sustentada ou aumentada de fatores de transcrição envolvidos na síntese de citocinas inflamatórias tais como NF-kappaB (medido, por exemplo, por translocação nuclear ou por *Western Blotting* e quantificação do nível de degradação de IkappaB). Pode igualmente ser medido pela quantificação de mediadores pró-resolutivos especializados (tais como lipoxinas, resolvinas, protectinas ou maresinas) ou seus precursores (como 17-HDOHE ou 14-HDOHE) por espectrometria de massa ou imunoensaio enzimático. Um defeito na resolução então resulta em um defeito na síntese de um ou mais desses mediadores. Um defeito na resolução pode também resultar desde diminuição da expressão dos receptores das moléculas da resolução (ALX / CMK1R1, GPR32, GPR18) ou da internalização e processamento daqueles receptores no citoplasma ou até superexpressão de alguns receptores de citocinas inflamatórias ou lipídios. Essas condições podem ser medidas por histologia, citologia ou PCR. O defeito na resolução pode também resultar em diminuição ou inibição da mudança de macrófagos M1 para M2, um dano na fagocitose ou eferocitose das mesmas células.

[006] Está claro agora que uma família de substâncias químicas promove a resolução e o reparo tecidual da inflamação sem comprometer a defesa do hospedeiro, além de ativadores e/ou inibidores de *checkpoints* (pontos de controle do sistema imunológico) envolvidos em tal mecanismo. Eventos no início da inflamação aguda estabelecem vias biossintéticas para vários mediadores químicos que poderiam server como antagonistas, bem como agonistas, significando que eles não inibem simplesmente a via da inflamação, mas podem atacar a inflamação levando à restauração da homeostase e função do tecido. Fatores anti-inflamação e pró-resolução ,

portanto, não são equivalentes (Buckley *et al.*, 2014) (Serhan, 2014a). A falha na resolução da inflamação aguda participa no desenvolvimento da inflamação crônica. Consequentemente, compostos anti-inflamatórios referem-se a inibidores ou bloqueadores da resolução da inflamação, como o fazem moléculas que interrompem o extravasamento imune, enquanto fatores pró-resolutivos estimulam e/ou ativam processos específicos tais como apoptose ou eferocitose que iniciam ou reforçam a resolução da inflamação.

[007] A resolução é iniciada pouco depois do começo da resposta inflamatória pelos PMN, ela elimina o patógeno e, paralelamente, inicia a síntese de mediadores pró-resolutivos especializados (SPM). Esses SPM são os principais atores da fase de resolução. Neutrófilos controlam o início da fase de resolução da inflamação ao possibilitarem a ativação de circuitos pró-resolutivos visando assegurar a conclusão segura da resposta inflamatória. No estágio inicial da resolução, os neutrófilos sofrem uma mudança (*switch*) de fenótipo para produzir perfis diferentes de mediadores lipídicos, dependendo das células e dos substratos presentes no meio imediato. PMN-LT muda para via de PMN-LO (lipoxigenase) sob a ação de lipoxina e Resolvinas. Eles são expostos a gradiente de autacoides iniciando mudanças fenotípicas. As lipoxinas são geradas através da via biossintética envolvida durante a interação célula-célula (PMN-5-LO/ célula residente no tecido - 5-LO). Foi observado que a cicatrização de feridas é atrasada em modelo com deleção de neutrófilos e que neutrófilos liberam proteases que desativam citocinas inflamatórias.

[008] Várias moléculas estão envolvidas no início ou na inibição da resolução da inflamação. As moléculas a seguir são ilustrativas de tais moléculas ativas. COX-2 (Ciclooxigenase-2), uma prostaglandina-endoperóxido sintase (PTGS), é uma enzima responsável pela formação de prostanoídes, incluindo tromboxano e prostaglandinas tais como prostaciclina, e possui uma papel duplo como contribuinte para o início da inflamação e,

mais tarde, como auxiliar (*helper*) para resolver o processo. Os inibidores de COX-2 podem ter um efeito benéfico na fase inicial da inflamação. Os inibidores de COX-2 têm também consequências desfavoráveis, tais como diminuir o tráfego inicial de PMN, interferir na produção de LXA, diminuir a fagocitose por macrófagos e reduzir PGE2 e LXA. Uma prostaglandina anti-inflamatória, denominada PGD2/15dPGJ, está também envolvida no *feedback* negativo, mas outras prostaglandinas, como PGE2, estão envolvidas no *feedback* positivo durante a resolução da inflamação.

[009] Receptores acoplados à proteína G (GPCRs) constituem uma grande família de proteínas que abrange uma ampla gama de funções, incluindo vários processos autócrinos, parácrinos e endócrinos. Eles exibem diversidade considerável em nível de sequência e, com base no mesmo, podem ser separados em grupos distintos. Tipicamente, a ativação de GPCRs envolve redes amplas de vias de sinalização que são mediadas por proteínas G ou arrestina-B ou ambas.

[0010] O receptor semelhante ao de quimiocina-1 (CMKLR1), também conhecido como ChemR23, e o receptor semelhante ao de quimiocina-2 (CCRL2) são receptores com 7 domínios transmembrana, identificados por sua homologia com os conhecidos receptores acoplados à proteína G (AJ Kennedy e AP Davenport, 2018). O receptor semelhante ao de quimiocina-1 (CMKLR1; também denominado Dez em animais murinos), é um receptor órfão acoplado à proteína G relacionado a GPR-1 (38% de identidade global dos aminoácidos), receptor C3a (38%), receptor de C5a anafilotoxina (36%) e receptores formil Met-Leu-Phe (35%). ChemR23 é relacionado de modo mais distante à subfamília de receptores de quimiocina (Samson *et al.*, 1998). CMKLR1 é expresso em monócitos, em macrófagos, em células dendríticas e células NK, bem como em adipócitos e células endoteliais. A expressão de CMKLR1 foi também descrita em muitas populações celulares além dos leucócitos, incluindo pré-adipócitos e

adipócitos (Goralski *et al.*, 2007; Roh *et al.*, 2007), células do músculo esquelético (Sell *et al.*, 2009) e células endoteliais (Kaur *et al.*, 2010), e papéis adicionais para o sistema chemerina/CMKLR1 foram propostos no controle do metabolismo de lipídios e da glicose (Bozaoglu *et al.*, 2007; Ernst e Sinal, 2010), pressão arterial (Watts *et al.*, 2013), e angiogênese (Kaur *et al.*, 2010).

[0011] Estudos recentes identificaram ligantes para esses receptores e suas funções começaram a ser reveladas. Assim, a chemerina quimioatraente derivada de proteína plasmática é um ligante para CMKLR1 e a ativação de CMKLR1 com chemerina demonstrou induzir a migração de macrófagos e células dendríticas (DCs) *in vitro*, sugerindo um papel pro-inflamatório da Chemerina. Estudos *in vivo* utilizando camundongos deficientes em CMKLR sugerem o contrário, que esses receptores podem ter um papel anti-inflamatório, possivelmente devido ao recrutamento de DCs plasmocitoides. A interação chemerina/CMKLR1 também promove a adipogênese e a angiogênese.

[0012] Chemerina atua como uma quimiocina durante a inflamação, recrutando células para o sítio de infecção. Esse ligante promove a resolução da inflamação em modelos animais de inflamação aguda ao intensificar a apoptose de PMN e eferocitose dependente de M2 (fagocitose não flogística; sem liberação de mediadores pró-inflamatórios) e diminuir a migração DC e a secreção de IL12 (citocina pró-inflamatória citocina) (Serhan, 2014b).

[0013] Chemerina está presente em quantidades elevadas em líquidos inflamatórios, possui atividades antimicrobianas, demonstrou atrair leucócitos com expressão de CMKLR1 e promove a adesão de macrófagos a proteínas da matriz extracelular (Wittamer *et al.*, 2003). Além disso, descobriu-se recentemente que a chemerina é uma adipocina. Secretada por adipócitos maduros, ela estimula a diferenciação de pré-adipócitos. Níveis séricos aumentados de chemerina foram associados com doenças inflamatórias

crônicas, doença arterial coronária, a síndrome metabólica e obesidade. Há indicação de que a produção elevada de chemerina no tecido adiposo de obesos poderia contribuir para a infiltração aumentada de macrófagos observada no tecido adiposo de obesos, levando à inflamação em nível baixo. Quando Chemerina liga-se a CMKLR1, duas vias de sinalização são ativadas: a via de sinalização de proteína G e via de sinalização de β -arrestina.

[0014] O Segundo ligante de CMKLR1 é o mediador lipídico Resolvina E1 (RvE1) que pertence à família de Resolvinas. O mediador lipídico anti-inflamatório Resolvina E1 inibe a infiltração por leucócitos e a expressão de genes pró-inflamatórios. Esses resultados divergentes sugerem que CMKLR1 é um receptor multifuncional. Ele está envolvido em aumentar a apoptose de PMN e a eferocitose por M2 e diminuir a migração de DC e a secreção de citocinas pró-inflamatórias como IL12. RvE1 é produzido por neutrófilos e células endoteliais. É também induzido *in vitro* pelo tratamento com aspirina porque a aspirina ativa a via de COX-2 responsável pela produção de RvE1. Além disso, os neutrófilos possibilitam a conversão de 18R-HEPE em RvE1. Em pacientes com periodontite localizada agressiva (LAP), foi observado que os macrófagos reduzem a fagocitose. RvE1 resgata a atividade fagocitária de macrófagos, comprometida pela LAP. Além disso, RvE1 promove a resolução ao reduzir IL-23 e IL-6 em vias alérgicas de camundongos, bem como aumentar IFN- γ . RvE1 regula a migração e citotoxicidade de células *natural killer* (NK). Quando RvE1 liga-se a CMKLR1, somente a via de sinalização da proteína G é ativada e a via da B-arrestina é inibida; e, em condições particulares, a via da B-arrestina é inibida.

[0015] Inicialmente, o interesse no sistema de chemerina centrou-se em seu papel na inflamação e quimiotaxia de células imunes após sua descoberta na doença psoríase. Mais recentemente, em conexão com sua contribuição para inflamação, obesidade, síndrome metabólica, considerou-se seu potencial papel em associação com funções cardiovasculares, bem como

com biologia reprodutiva. Portanto, o sistema de chemerina é de grande interesse por seu papel no processo inflamatório, especialmente por seu papel na resolução da inflamação. Várias doenças estão relacionadas com atraso ou interrupção do processo de resolução. A maioria dos mediadores especializados pró-resolutivos atualmente conhecidos são derivados de ácidos graxos poli-insaturados, incluindo lipoxinas, a família de resolução, incluindo resolvinas da série E e resolvinas da série D, protectinas e maresinas. Não obstante, moléculas pró-resolutivas são difíceis de sintetizar por causa da sua natureza lipídica. A produção de moléculas pró-resolutivas em quantidades suficientes, para um estudo clínico, por exemplo, é um fardo, e muito poucos SPM passaram por produção eficiente. Além disso, anticorpos direcionado especificamente contra receptores acoplados à proteína G são difíceis de produzir. Há, portanto, necessidade de moléculas capazes de iniciar ou intensificar o estágio de resolução da resposta inflamatória como fatores pró-resolutivos.

Sumário da invenção

[0016] Em um primeiro aspecto, a invenção refere-se a um anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno. Na exposição a seguir, um composto anti-CMKLR1 é considerado como sendo um anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno. Em uma modalidade específica da invenção, o dito composto é definido pelas sequências de suas CDRs. Em uma modalidade mais específica da invenção, o composto anti-CMKLR1 é um anticorpo definido pelas sequências de suas CDRs e suas regiões *framework* (FR). Um composto anti-CMKLR1 é um composto que se liga especificamente ao receptor semelhante ao de Quimiocina-1 (CMKLR1). Na exposição a seguir, os termos receptor semelhante ao da Quimiocina-1, CMKLR1 e ChemR23 são usados

alternadamente, e todos designam o receptor codificado pelo gene *CMKLR1* nos humanos ou *cmklr1* em animais não humanos. Em uma modalidade específica da invenção, o composto anti-CMKLR1 liga-se especificamente ao CMKLR1 humano ou, em outras palavras, a invenção refere-se a um composto anti-CMKLR1 humano. Neste relatório descritivo, o termo “CMKLR1” refere-se a uma proteína Chemokin-Like Receptor 1 (também designada chemR23), um membro da família de receptores acoplados à proteína G de uma espécie de mamífero, preferivelmente um CMKLR1 humano. Uma sequência de referência da proteína CMKLR1 humano, usada nos exemplos do presente pedido de patente, corresponde à sequência associada ao Número de acesso Uniprot Q99788 (SEQ ID No: 1).

[0017] Em um segundo aspecto, a invenção refere-se a um anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno, definido por ao menos uma característica funcional. Em uma modalidade preferida, o dito composto anti-CMKLR1 é definido por sua capacidade para inibir a secreção de citocinas pró-inflamatórias, em particular IL12, e/ou sua capacidade para aumentar a secreção de citocinas anti-inflamatórias, em particular IL10 e/ou CCL17. Em uma modalidade mais específica, o composto anti-CMKLR1 inibe ou aumenta a secreção de citocinas por macrófagos, em particular macrófagos M1 e/ou M2. Em uma modalidade específica, o composto anti-CMKLR1 da invenção aumenta a polarização de macrófagos para macrófagos anti-inflamatórios, em particular, macrófagos M2.

[0018] Em um terceiro aspecto, a invenção refere-se a um anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno que possui propriedades agonistas de Resolvina E1 (RvE1), simulando, assim, a ligação de RvE1 a CMKLR1 em células positivas para CMKLR1. “*Propriedades agonistas para interação RvE1-CMKLR1*” significa que o anticorpo ou fragmento de ligação ao

antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno da invenção, cujo alvo é o CMKLR1, tem o efeito de simular a ligação de RvE1 ao CMKLR1, ativando, assim, a via de sinalização do receptor normalmente ativada por RvE1, especialmente a ligação de RvE1 humano ao CMKLR1 humano, em particular em células dendríticas, monócitos e macrófagos. Como resultado da ligação e ativação do receptor para produzir uma resposta biológica, os compostos da invenção podem levar à ativação da via de sinalização de proteínas G, em particular a via de sinalização de $G\alpha_i$ e/ou $G\alpha_o$, sem ativar a via de β -arrestina, em particular o composto da invenção pode levar à inibição da via de β -arrestina. Especificamente, a ligação de um composto de acordo com a invenção induz a ativação da(s) proteína(s) Akt e/ou Erk *in vitro* e/ou *in vivo*. Em outras palavras, um anticorpo agonista semelhante à Resolvina-E1 pode ser definido como um anticorpo capaz de se ligar a CMKLR1 e, assim, capaz de induzir a fosforilação da(s) proteína(s) Akt e/ou Erk, quando comparado a um anticorpo controle. Um anticorpo controle pode ser um anticorpo que não se liga especificamente a CMKLR1. A fosforilação de uma proteína pode ser determinada de acordo com métodos bem conhecidos pelo técnico no assunto, por exemplo, pelo método exposto nos exemplos da presente descrição.

[0019] Em uma modalidade específica, um composto da invenção é um agonista tipo RvE1, ou seja, um composto da invenção é um agonista da via de sinalização de CMKLR1 induzida por RvE1. Em outras palavras, o composto anti-CMKLR1 da invenção é um agonista da interação entre RvE1 e CMKLR1, em particular entre RvE1 humana e CMKLR1 humano. Em uma modalidade específica, o composto da invenção aumenta a ativação da via da proteína G induzida por CMKLR1. Em outra modalidade, o composto da invenção não induz a ativação da via da β -arrestina induzida por CMKLR1. Em outra modalidade, o composto da invenção inibe a via da β -arrestina induzida por CMKLR1. Em outra modalidade, como um composto da

invenção induz ao menos um efeito agonista da ligação de RvE1 a CMKLR1 e, como RvE1 é um fator pró-resolução ou mediador pró-resolução, um composto da invenção é um fator pró-resolução ou um mediador pró-resolução.

[0020] Em uma modalidade específica, um composto da invenção não interfere com a ligação de Chemerina a CMKLR1. Chemerina é um dos ligantes naturais de CMKLR1. Em outras palavras, um composto de acordo com a invenção não é um agonista da interação entre Chemerina e CMKLR1. A ausência de tal capacidade agonista pode ser avaliada de acordo com os exemplos da invenção, no qual é descrito um ensaio de competição para medir o recrutamento de B-arrestina dependente de Chemerina pelo receptor CMKLR1 na presença do anticorpo anti-CMKLR1 da invenção. Em uma modalidade preferida, o composto anti-CMKLR1 da invenção não compete com Chemerina pela ligação a CMKLR1. A ausência de competição entre um composto anti-CMKLR1 da invenção e chemerina pode ser determinada quando, na presença do composto CMKLR1 da invenção, a ligação de Chemerina a CMKLR1 é pelo menos 50%, mais preferivelmente pelo menos 80%, ainda mais preferivelmente pelo menos 90% e, o mais preferível, semelhante à ligação de Chemerina a CMKLR1, sob as mesmas condições experimentais, mas sem a presença do anti-CMKLR1 da invenção. Alternativamente, a ausência de competição entre um composto anti-CMKLR1 da invenção e Chemerina pode ser determinada de acordo com o método ilustrado no Exemplo 11.

[0021] Em uma modalidade específica, o composto anti-CMKLR1 possui a capacidade *in vitro* e/ou *in vivo* para ativar ao menos uma das proteínas da via de sinalização de Akt (também conhecida como Via PI3K-Akt) e/ou das proteínas da via de sinalização de Erk, preferivelmente a proteína Akt e/ou proteína Erk, de preferência as duas proteínas Akt e Erk. A ativação de uma via pode ser avaliada de acordo com métodos conhecidos na

técnica e, em particular, com os métodos descritos nos exemplos da presente invenção.

[0022] Em uma modalidade específica, o anticorpo, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno da invenção aumenta a secreção da citocina IL10 induzida por RvE1 *in vitro* e/ou *in vivo*, em particular a secreção da citocina IL10 por macrófagos. Em uma modalidade específica, o anticorpo, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno da invenção aumenta a secreção das citocinas IL10 e CCL17 induzida por RvE1 *in vitro* e/ou *in vivo*, em particular a secreção de IL10 e CCL17 por macrófagos. Em uma modalidade específica, o anticorpo, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno da invenção inibe a secreção da citocina IL12 *in vitro* e/ou *in vivo*, em particular a secreção de IL12 por macrófagos. A inibição pode ser parcial, ou seja, o nível de secreção de IL12 na presença do composto anti-CMKLR1 é menor em relação a um nível basal (ou seja, o nível sem RvE1 ou o composto anti-CMKLR1), ou a inibição pode ser completa (nenhuma secreção de IL12).

Descrição detalhada da invenção

[0023] Neste relatório descritivo, o termo “anticorpo” compreende anticorpos policlonais, anticorpos monoclonais ou anticorpos recombinantes. Neste relatório descritivo, um “anticorpo monoclonal” destina-se a se referir a uma preparação de moléculas de anticorpos para obter anticorpos que compartilham uma sequência de aminoácidos da cadeia pesada comum e da cadeia leve comum, em contraste com preparações de anticorpo “policlonal” que contêm uma mistura de sequências diferentes de aminoácidos. Anticorpos monoclonais podem ser gerados por diversas tecnologias conhecidas como expressão em fagos, bactérias, leveduras ou ribossomal, bem como métodos clássicos exemplificados por anticorpo derivados de hibridomas. Podem

também ser sintetizados utilizando as sequências de aminoácidos reveladas, como referência. Assim, o termo “monoclonal” é usado para referir-se a todos os anticorpos derivados de um clone de ácido nucleico.

[0024] Os anticorpos da presente invenção incluem anticorpos recombinantes. Neste relatório descritivo, o termo “anticorpo recombinante” refere-se a anticorpos que são produzidos, expressos, gerados ou isolados por meios recombinantes, tais como anticorpos que são expressos usando um vetor de expressão recombinante transfectado para uma célula hospedeira; anticorpos isolados de uma biblioteca combinatória de anticorpos recombinantes; anticorpos isolados de um animal (p. ex., um camundongo) que é transgênico devido a genes de imunoglobulinas humanas; ou anticorpos que são produzidos, expressos, gerados ou isolados de qualquer outra maneira na qual sequências gênicas específicas de imunoglobulinas (tais como sequências de genes de imunoglobulinas humanas) são montadas com outras sequências de DNA. Os anticorpos recombinantes incluem, por exemplo, anticorpos quiméricos e humanizados.

[0025] Neste relatório descritivo, um “anticorpo quimérico” refere-se a um anticorpo no qual a sequência do domínio variável derivado da linhagem germinativa de uma espécie de mamífero, tal como um camundongo, foram enxertadas na sequência do domínio constante derivado da linhagem germinativa de outra espécie de mamífero, tal como um humano.

[0026] Neste relatório descritivo, um “anticorpo humanizado” refere-se, em uma primeira modalidade, a um anticorpo no qual sequências de CDRs derivadas da linhagem germinativa de outra espécie de mamífero, tal como um camundongo, foram enxertadas em sequências *framework* (arcabouço) humanas ou humanizadas. Em uma modalidade adicional, um “anticorpo humanizado” refere-se a um anticorpo em que ao menos uma CDR e todas as sequências ou parte das sequências *framework* foram humanizadas.

[0027] Neste relatório descritivo, um “fragmento de ligação ao

antígeno de um anticorpo” significa uma parte de um anticorpo, ou seja, uma molécula que corresponde a uma porção da estrutura do anticorpo da invenção, que exibe capacidade de ligação ao antígeno de CMKLR1, possivelmente em sua forma nativa; tal fragmento exibe especialmente a mesma ou substancialmente a mesma especificidade de ligação ao antígeno para o dito antígeno em comparação à especificidade de ligação ao antígeno do anticorpo correspondente de quatro cadeias. Vantajosamente, os fragmentos de ligação ao antígeno possuem uma afinidade de ligação semelhante à dos anticorpos correspondentes de quatro cadeias. No entanto, fragmentos de ligação ao antígeno com uma afinidade de ligação ao antígeno reduzida em relação aos anticorpos correspondentes de quatro cadeias são também abrangidos pela invenção. A capacidade de ligação ao antígeno pode ser determinada medindo-se a afinidade entre o anticorpo e o fragmento alvo. Esses fragmentos de ligação ao antígeno podem também ser designados como “fragmentos funcionais” de anticorpos.

[0028] Fragmentos de ligação ao antígeno de anticorpos são fragmentos que compreendem seus domínios hipervariáveis designados CDRs (Regiões Determinantes de Complementaridades) ou parte(s) dos mesmos abrangendo o sítio de reconhecimento do antígeno, ou seja, o domínio extracelular de CMKLR1, em particular a terceira alça do domínio extracelular de CMKLR1 (designada EL3), definindo, com isso, a especificidade para o reconhecimento do antígeno. EL3 está localizada entre o resíduo de aminoácido 283 e o resíduo de aminoácido 300 de SEQ ID No: 1. EL3 corresponde aos resíduos de aminoácidos de SEQ ID No: 2. EL3 está também compreendida no polipeptídeo de SEQ ID No: 18.

[0029] Cada domínio variável da cadeia Leve e Pesada (respectivamente VL e VH) de uma imunoglobulina de quatro cadeias possui três CDRs designadas VLCDR1, VLCDR2 e VLCDR3 para o domínio variável da cadeia leve; e VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3 para o domínio

variável da cadeia pesada. Cada domínio variável da cadeia Leve e Pesada de uma imunoglobulina de quatro cadeias possui quatro regiões *framework* (arcabouço) (FR), designadas LFR1, LFR2, LFR3 e LFR4 para o domínio variável da cadeia leve; e HFR1, HFR2, HFR3 e HFR4 para o domínio variável da cadeia pesada.

[0030] O técnico no assunto é capaz de determinar a localização das várias regiões/domínios de anticorpos por referência às definições padrão apresentadas a esse respeito, incluindo um sistema de numeração de referência, uma referência ao sistema de numeração de KABAT ou pela aplicação do algoritmo IMGT “collier de perle”. A esse respeito, para a definição das sequências da invenção, note-se que a delimitação das regiões/domínios pode variar de um sistema de referência para outro. Consequentemente, as regiões/domínios definidos na presente invenção abrangem sequências que mostram variações, no comprimento e na localização das sequências em questão dentro de sequência completa dos domínios variáveis dos anticorpos, de aproximadamente +/- 10%.

[0031] Tendo por base a estrutura de imunoglobulinas de quatro cadeias, os fragmentos de ligação ao antígeno podem ser, assim, definidos por comparação a sequências de anticorpos nos bancos de dados disponíveis e na técnica anterior e, especialmente, por comparação da localização dos domínios funcionais nessas sequências, notando-se que as posições dos domínios *framework* e constantes são bem definidas para várias classes de anticorpos, especialmente para IgGs, em particular para IgGs de mamíferos. Tal comparação também envolve dados relativos às estruturas tridimensionais dos anticorpos.

[0032] Para fins de ilustração de modalidades específicas da invenção, os fragmentos de ligação ao antígeno de um anticorpo que contêm os domínios variáveis compreendendo as CDRs do dito anticorpo abrangem Fv, dsFv, scFv, Fab, Fab', F(ab')₂. Os fragmentos Fv consistem nos domínios VL

e VH de um anticorpo, associados entre si por interações hidrofóbicas; nos fragmentos dsFv, o heterodímero VH:VL é estabilizado por uma ligação dissulfeto; nos fragmentos scFv, os domínios VL e VH são conectados um ao outro por um *linker* peptídico flexível, formando, assim, uma proteína de cadeia única. Os fragmentos Fab são fragmentos monoméricos que podem ser obtidos pela digestão com papaína de um anticorpo; eles compreendem a cadeia L inteira e um fragmento VH-CH1 da cadeia H, unido através de uma ligação dissulfeto. O fragmento F(ab')₂ pode ser produzido por digestão com pepsina de um anticorpo abaixo da dobradiça (*hinge*) dissulfeto; ele compreende dois fragmentos Fab' e, além disso, uma porção da porção *hinge* da molécula da imunoglobulina. Os fragmentos Fab' podem ser obtidos a partir de fragmentos F(ab')₂, cortando uma ligação dissulfeto na região *hinge*. Os fragmentos F(ab')₂ são bivalentes, ou seja, compreendem dois sítios de ligação ao antígeno, como a molécula da imunoglobulina nativa; por outro lado, fragmentos Fv (um dímero VHVL constituindo a parte variável de Fab), dsFv, scFv, Fab e Fab' são monovalentes, ou seja, compreendem um único sítio de ligação ao antígeno. Esses fragmentos básicos de ligação ao antígeno da invenção podem ser combinados entre si para obter fragmentos multivalentes de ligação ao antígeno, tais como diabodies, tribodies ou tetrabodies. Esses fragmentos multivalentes de ligação ao antígeno também fazem parte da presente invenção.

[0033] Neste relatório descritivo, o termo anticorpo modificado inclui anticorpos “biespecíficos” e refere-se a anticorpos que reconhecem dois antígenos diferentes pelo fato de possuírem pelo menos uma região (p. ex., derivada de uma região variável de um primeiro anticorpo) que é específica para um primeiro antígeno e pelo menos uma segunda região (p. ex., derivada de uma região variável de um segundo anticorpo) que é específica para um segundo antígeno. Um anticorpo biespecífico liga-se especificamente a dois antígenos alvos e é, portanto, um tipo de anticorpo multiespecífico.

Anticorpos multiespecíficos, que reconhecem dois ou mais antígenos diferentes, podem ser produzidos por métodos do DNA recombinante ou incluem, entre outros, anticorpos produzidos quimicamente por qualquer método conveniente. Os anticorpos biespecíficos incluem todos os anticorpos ou conjugados de anticorpos, ou formas poliméricas de anticorpos que são capazes de reconhecer dois antígenos diferentes. Os anticorpos biespecíficos incluem anticorpos que foram reduzidos e reformados de modo a reter suas características bivalentes e a anticorpos que foram acoplados quimicamente de modo que estes possam ter diversos sítios de reconhecimento de antígenos para cada antígeno tais como BiME (*Bispecific Macrophage Enhancing antibodies*), BiTE (*bispecific T cell engager*), DART (*Dual afinidade retargeting*); DNL (*dock-and-lock*), DVD-Ig (imunoglobulinas de duplo domínio variável), HAS (albumina sérica humana), kih (*knobs into holes*).

[0034] Miméticos de anticorpos de ligação ao antígeno são compostos orgânicos que se ligam especificamente a antígenos, mas que não são estruturalmente relacionados a anticorpos. Normalmente, são peptídeos artificiais ou proteínas pequenas com massa molar entre aproximadamente 3 e 20 kDa. Ácidos nucleicos e moléculas pequenas são às vezes considerados miméticos de anticorpos também, mas não anticorpos artificiais, fragmentos de anticorpos e proteínas de fusão compostos por eles. Vantagens comuns em relação a anticorpos são melhor solubilidade, penetração em tecidos, estabilidade frente ao calor e enzimas e custos de produção comparativamente baixos. Miméticos de anticorpos estão bem desenvolvidos como agentes terapêuticos e diagnósticos. Miméticos de anticorpos de ligação ao antígeno podem também ser selecionados entre o grupo que compreende affibodies, afilinas, afímeros, afitinas, DARPin e Monobodies.

[0035] Um mimético de anticorpo de ligação ao antígeno é mais preferencialmente selecionado a partir dos grupos que compreendem afitinas e anticalinas. Afitinas são proteínas artificiais com a capacidade para ligar-se

seletivamente a antígenos. Eles são derivados estruturalmente da proteína de ligação ao DNA, Sac7d, encontrada em *Sulfolobus acidocaldarius*, um microrganismo pertencente ao domínio *Archaea*. Com a randomização dos aminoácidos na superfície de ligação de Sac7d, p. ex., com a geração de variantes correspondentes a substituições aleatórias de 11 resíduos da interface de ligação de Sac7d, uma biblioteca de afitinas pode ser gerada e submetida a biblioteca de proteínas resultantes a ciclos de expressão em ribossomos e a afinidade pode ser direcionada para vários alvos, tais como peptídeos, proteínas, vírus e bactérias. Afitinas são miméticos de anticorpos e estão sendo desenvolvidas como ferramentas em biotecnologia. Elas também foram utilizadas como inibidores específicos de várias enzimas (Krehenbrink *et al.*, J. mol. Biol., 383:5, 2008). O técnico no assunto pode desenvolver facilmente afitinas com as propriedades de ligação requeridas usando métodos conhecidos na técnica, em particular como descrito no pedido de patente WO2008068637 e na publicação citada acima, em particular a geração de bibliotecas de expressão em fagos e/ou expressão em ribossomos e seu rastreamento utilizando um antígeno como aqui exposto. Anticalinas são proteínas artificiais que são capazes de ligar-se a antígenos, quer a proteínas ou a moléculas pequenas. Elas são miméticos de anticorpos derivados de lipocalinas humanas que são uma família de proteínas naturalmente de ligação. As anticalinas são oito vezes menores com um tamanho de aproximadamente 180 aminoácidos e uma massa de aproximadamente 20 kDa (Skerra, Febs J., 275:11, 2008). Geraram-se bibliotecas de expressão de anticalinas em fagos que permitem o rastreamento e seleção, em particular de anticalinas com propriedades de ligação específica. O técnico no assunto pode desenvolver rapidamente anticalinas com as propriedades de ligação requerida usando métodos conhecidos na técnica, em particular conforme descrito na patente EP EP1270725 B1, patente US US8536307 B2, Schlehuber and Skerra, Biophys. Chem., 96:2-3, 2002 e a publicação citada acima, em

particular a geração de bibliotecas de expressão em fagos e/ou expressão em ribossomos e o seu rastreamento usando um antígeno como aqui descrito. Anticalinas e afitinas podem ser produzidas em diversos sistemas de expressão compreendendo sistemas de expressão bacterianos. Assim, a invenção inclui o uso de afitinas, anticalinas e outros de miméticos de anticorpos semelhantes com as características dos anticorpos aqui descritos, em particular com relação à sua capacidade de ligação a CMKLR1, à sua capacidade agonista no sentido da ligação entre RvE1 e CMKLR1, à sua capacidade para induzir ou inibir a secreção de particular citocinas como aqui descrito, ao seu uso no tratamento ou na prevenção de uma doença, como aqui descrito, sendo todos esses contemplados como miméticos de acordo com a invenção.

[0036] Neste relatório descritivo, um “anticorpo modificado” refere-se a anticorpos cuja sequência amino foi modificada por mutação de ao menos um resíduo de aminoácido. Consequentemente, “anticorpo modificado” abrange anticorpos quiméricos ou anticorpos humanizados como aqui definidos. “Anticorpo modificado” pode também corresponder a uma molécula que compreende um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, em que o dito anticorpo monoclonal ou fragmento funcional do mesmo é associado com uma molécula funcionalmente diferente. Um anticorpo modificado da invenção pode ser uma proteína de fusão quimérica ou um conjugado resultante de qualquer forma de ligação incluindo ligação covalente, enxerto, ligação química com um grupo químico ou biológico ou com uma molécula, tais como um polímero PEG ou outro grupo protetor ou molécula adequada para proteção contra a clivagem por proteases *in vivo*, para melhoria da estabilidade e/ou meia-vida do anticorpo ou fragmento funcional. Com técnicas semelhantes, especialmente por acoplamento químico ou enxerto, um anticorpo modificado pode ser preparado com uma molécula biologicamente ativa, a dita molécula ativa

sendo escolhida, por exemplo, entre toxinas, em particular a exotoxina A de *Pseudomonas*, a cadeia A da toxina vegetal ricina ou toxina saporina, especialmente um ingrediente ativo terapêutico, um vetor (incluindo especialmente um vetor de proteína) adequado para direcionamento do anticorpo ou fragmento funcional para células específicas ou tecidos do corpo humano, ou pode ser associado com uma marcação ou com um *linker*, especialmente quando são utilizados fragmentos do anticorpo. A PEGuilação do anticorpo ou fragmentos funcionais do mesmo é uma modalidade especialmente interessante, pois melhora as condições de liberação da substância ativa ao hospedeiro, especialmente para uma aplicação terapêutica. A PEGuilação pode ser sítio-específica para impedir a interferência com os sítios de reconhecimento dos anticorpos ou fragmentos funcionais, e pode ser realizada com PEG de alto peso molecular. A PEGuilação pode ser conseguida através de resíduos livres de cisteína presentes na sequência do anticorpo ou fragmento funcional ou através de resíduos de cisteína livre adicionados na sequência amino do anticorpo ou fragmento funcional. De acordo com a presente invenção, quando usado, o termo “anticorpo” significa um anticorpo, um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, um mimético de anticorpo de ligação ao antígeno ou anticorpo modificado.

[0037] Formas “humanizadas” de anticorpos não humanos (p. ex., murinos) são imunoglobulinas quiméricas, cadeias de imunoglobulinas ou fragmentos das mesmas (tais como Fv, Fab, Fab’, F(ab’)2 ou outras subsequências de ligação ao alvo de anticorpos) que contêm sequências mínimas derivadas de imunoglobulina não humana. Em geral, o anticorpo humanizado compreenderá substancialmente todo de pelo menos um e, tipicamente, dois domínios variáveis, no qual todas as regiões CDR correspondem àquelas de uma imunoglobulina não humanizada e/ou uma versão humanizada daquelas; e todas ou substancialmente todas as regiões FR são aquelas de uma sequência molde de imunoglobulina humana. O anticorpo

humanizado pode também compreender pelo menos uma porção de uma região constante de imunoglobulina (Fc), tipicamente aquela de um molde imunoglobulina humana escolhida. Em uma modalidade específica, a invenção refere-se a um anticorpo que compreende uma região variável de cadeia pesada, como aqui descrita, e uma região variável de cadeia leve como aqui descrito, a região variável de cadeia pesada e/ou a região variável de cadeia leve compreendendo ainda uma região constante, em particular uma região Fc.

[0038] Os termos “ligando-se especificamente” e “liga-se especificamente a” referem-se à capacidade de um anticorpo, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, mimético de anticorpo de ligação ao antígeno ou um anticorpo modificado de acordo com a invenção para se ligar a CMKLR1 com uma afinidade de ao menos 1×10^{-6} M, 1×10^{-7} M, 1×10^{-8} M, 1×10^{-9} M, 1×10^{-10} M, 1×10^{-11} M, 1×10^{-12} M ou mais e/ou para se ligar a CMKLR1 com uma afinidade que é pelo menos duas vezes maior do que sua afinidade por um alvo não específico (p. ex., outra proteína diferente de CMKLR1). A afinidade pode ser avaliada de acordo com vários métodos bem conhecidos pelos técnicos no assunto. Esses métodos incluem, entre outros, biossensores tais como análise Biacore, análise Blitz e gráfico de Scatchard.

[0039] O termo “quantidade terapêuticamente eficaz” é usado para se referir a uma quantidade de qualquer dado composto, como aqui definido, suficiente para pelo menos a melhora da condição clínica ou fisiológica de um paciente tratado. A quantidade terapêuticamente eficaz do anticorpo, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno de acordo com a invenção a ser administrada é controlada por considerações tais como o transtorno em tratamento, o mamífero em particular sendo tratado, a condição clínica individual do paciente, a causa do transtorno, o local de entrega do agente, o

método de administração, o horário de administração e outros fatores conhecidos pelos médicos.

[0040] Todas as modalidades aqui descritas para anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos são transpostas *mutatis mutandis* para as macromoléculas da invenção, em particular para miméticos de anticorpos de ligação ao antígeno e para anticorpos modificados.

[0041] Em um primeiro aspecto, a invenção refere-se a um anticorpo, um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, um mimético de anticorpo de ligação ao antígeno ou anticorpo modificado que se liga especificamente a CMKLR1, em particular à alça EL3 de CMKLR1, em particular a um polipeptídeo que compreende os resíduos de aminoácidos de SEQ ID No: 2, e mais particularmente a um epítopo localizado dentro de SEQ ID No: 2 ou dentro da alça EL3 de CMKLR1 e que consiste na sequência de resíduos de aminoácido “ AMPGS “ (SEQ ID No: 152) e compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada compreendendo HCDR1, HCDR2 e HCDR3;
- um domínio variável de cadeia leve compreendendo LCDR1, LCDR2 e LCDR3;

Em outro aspecto, a invenção refere-se a um composto anti-CMKLR1, selecionado a partir do grupo de um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou an mimético de anticorpo de ligação ao antígeno ou um anticorpo quimérico ou humanizado, que se liga especificamente a CMKLR1, o dito composto compreendendo:

- um domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreendendo as três CDRs VHCDR1, VHCDR2 e VHCDR3, em que:
 - VHCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 4 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e
 - VHCDR2 compreende ou consiste na sequências de

aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 6 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VHCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 8 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s), desde que os resíduos de aminoácidos na posição 1 e 2 de SEQ ID No: 8 sejam respectivamente L e I ou L; e

- um domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreendendo as três CDRs VLCDR1, VLCDR2 e VLCDR3, em que:

- VLCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 12 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VLCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 14 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VLCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 15 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s);

em que o composto anti-CMKLR1 é um agonista de CMKLR1 do tipo RvE1, em particular em que o composto anti-CMKLR1 é um fator pró-resolução, em particular em linhagens de células mieloides;

em particular em que o composto anti-CMKLR1 é um composto anti-CMKLR1 humano.

[0042] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um composto anti-CMKLR1 selecionado a partir do grupo de um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou an mimético de anticorpo de ligação ao antígeno ou um anticorpo quimérico ou humanizado, que se liga especificamente a CMKLR1, o dito composto compreendendo um domínio variável de cadeia pesada de anticorpo que compreende uma VHCDR3

compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 8 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s), desde que os resíduos de aminoácidos na posição 1 e 2 de SEQ ID No: 8 sejam respectivamente L e I ou L; e

em que o composto anti-CMKLR1 liga-se especificamente a um epítipo localizado dentro da terceira alça extracelular (EL3) de CMKLR1, em particular em que o composto se liga especificamente a um polipeptídeo compreendendo ou consistindo nos resíduos de aminoácidos de sequência SEQ ID No: 2 ou SEQ ID No: 152; e

em que o composto anti-CMKLR1 é um agonista semelhante à Resolvina E1 de CMKLR1, em particular em que o composto anti-CMKLR1 é um fator pró-resolução, em particular em linhagens de células mieloides; e

em que o dito composto compete com um anticorpo que compreende o domínio variável de cadeia pesada correspondente à SEQ ID No: 9 e o domínio variável de cadeia leve correspondente à SEQ ID No: 16, mais particularmente com o anticorpo 2G1, pela ligação a um polipeptídeo compreendendo ou consistindo nos resíduos de aminoácidos de sequência SEQ ID No: 2 ou SEQ ID No: 152 ou a um polipeptídeo compreendendo ou consistindo na terceira alça (EL3) do domínio extracelular de CMKLR1.

[0043] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um composto anti-CMKLR1 selecionado a partir do grupo de um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou an mimético de anticorpo de ligação ao antígeno ou um anticorpo quimérico ou humanizado, que se liga especificamente a CMKLR1, o dito composto compreendendo:

- um domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreendendo as três CDRs VHCDR1, VHCDR2 e VHCDR3, em que:

- VHCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 4 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VHCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 6 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VHCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 8 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s), desde que os resíduos de aminoácidos na posição 1 e 2 de SEQ ID No: 8 sejam respectivamente L e I ou L; e

- um domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreendendo as três CDRs VLCDR1, VLCDR2 e VLCDR3, em que:

- VLCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 12 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VLCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 14 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VLCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 15 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s);

em que o composto anti-CMKLR1 é um agonista de CMKLR1 do tipo RvE1 , em particular em que o composto anti-CMKLR1 é um fator pró-resolução, em particular em linhagens de células mieloides;

o dito composto compete com um anticorpo que compreende o domínio variável de cadeia pesada correspondente à SEQ ID No: 9 e o domínio variável de cadeia leve correspondente à SEQ ID No: 16, mais particularmente com o anticorpo 2G1, pela ligação a um polipeptídeo (ou antígeno) compreendendo ou consistindo nos resíduos de aminoácidos de sequência SEQ ID No: 2 e/ou SEQ ID No: 152 e/ou pela ligação à terceira alça extra de CMKLR1 (ou seja, compete de modo cruzado pela ligação aos

resíduos de aminoácidos de SEQ ID No: 2 e/ou SEQ Id No: 152, ou pela ligação à terceira alça extra de CMKLR1). A ligação ao polipeptídeo que compreende ou consiste nos resíduos de aminoácidos de sequência SEQ ID No: 2 e/ou SEQ Id No: 152 e/ou pela ligação à terceira alça extra de CMKLR1 pode ser avaliada pelos exemplos descritos nos Exemplos da invenção, em particular no Exemplo 9 pela análise de afinidade de ligação por ensaios ELISA. Para determinar se um anticorpo em teste consegue competir pela ligação ao mesmo antígeno ou à terceira alça como o epítopo ligado pelo anticorpo 2G1 (ou um fragmento de ligação ao antígeno compreendendo o domínio variável de cadeia pesada correspondente à SEQ ID No: 9 e o domínio da cadeia leve correspondente à SEQ ID No: 16), pode ser realizado um ensaio de bloqueio cruzado (p. ex., um ensaio ELISA de competição). Em um ensaio ELISA de competição exemplar, um polipeptídeo compreendendo ou consistindo no epítopo ou na terceira alça pode ser revestido nos poços de uma placa de microtitulação e pré-incubado com ou sem o anticorpo competidor candidato e, a seguir, adiciona-se um anticorpo 2G1 marcado com biotina da invenção. A quantidade de anticorpo anti-2G1 ligado ao polipeptídeo, compreendendo ou consistindo no polipeptídeo de SEQ ID No: 2 ou SEQ ID No: 152 ou na terceira alça de CMKLR1, nos poços é medida usando um conjugado avidina-peroxidase e o substrato apropriado. O anticorpo pode ser marcado com uma marcação radioativa ou fluorescente ou alguma outra marcação detectável e mensurável. A quantidade de anticorpo anti-2G1 marcado que se ligou ao polipeptídeo de SEQ ID No: 2 ou SEQ ID No: 152 ou à terceira alça terá uma correlação indireta com a capacidade do anticorpo competidor candidato (anticorpo em teste) para competir pela ligação ao mesmo epítopo ou à mesma alça, ou seja, quanto maior a afinidade do anticorpo em teste pelo mesmo epítopo, menos anticorpo 2G1 marcado estará ligado aos poços revestidos com o antígeno. Um anticorpo competidor candidato é considerado um anticorpo que compete pela ligação ao mesmo

polipeptídeo ou à terceira alça que o anticorpo 2G1 da invenção se o anticorpo candidato conseguir bloquear a ligação do anticorpo 2G1 em pelo menos 20%, de preferência em pelo menos 20-50%, ainda mais preferivelmente em pelo menos 50% quando comparado a um controle realizado em paralelo na ausência do anticorpo competidor candidato (mas pode ser na presença de um anticorpo não competidor conhecido). Será entendido que variações desse ensaio podem ser realizadas para chegar ao mesmo valor quantitativo.

[0044] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um anticorpo, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, mimético de anticorpo de ligação ao antígeno ou anticorpo quimérico ou humanizado que se liga especificamente a CMKLR1, em particular a CMKLR1 humano, que compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreendendo as três CDRs VHCDR1, VHCDR2 e VHCDR3, em que:

- VHCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 3; SEQ ID No: 4; SEQ ID No: 62; SEQ ID No: 63; SEQ ID No: 64 ou SEQ ID No: 65; e

- VHCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No:5; SEQ ID No: 6; SEQ ID No: 66; SEQ ID No: 67; SEQ ID No: 68; SEQ ID No: 69; SEQ ID No: 70; SEQ ID No: 71 ou SEQ ID No: 72; e

- VHCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 7; SEQ ID No: 8; SEQ ID No: 73; SEQ ID No: 74, SEQ ID No: 75; SEQ ID No: 144; SEQ ID No: 145, SEQ ID No: 146; SEQ ID No: 147; SEQ ID No: 148, SEQ ID No: 149; SEQ ID No: 150 ou SEQ ID No: 151 e/ou

- um domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreendendo as três CDRs VLCDR1, VLCDR2 e VLCDR3, em que:

- VLCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 11; SEQ ID No: 12; SEQ ID No: 76; SEQ ID No: 77; SEQ ID No: 78; SEQ ID No: 79 ou SEQ ID No: 80; e

- VLCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 13; SEQ ID No: 14; SEQ ID No: 81; SEQ ID No: 82; SEQ ID No: 83; SEQ ID No: 84; SEQ ID No: 85; SEQ ID No: 86; SEQ ID No: 87 ou SEQ ID No: 88; e

- VLCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 15 ou SEQ ID No: 89.

[0045] Em uma modalidade específica, a invenção refere-se a um anticorpo, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno que se liga especificamente a CMKLR1, em particular a CMKLR1 humano, que compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreendendo as três CDRs VHCDR1, VHCDR2 e VHCDR3, em que:

- VHCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 4; SEQ ID No: 62; ou SEQ ID No: 63; e

- VHCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 67; SEQ ID No: 70 ou SEQ ID No: 72; e

- VHCDR3 compreende ou na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 8; SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; e/ou

- um domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreendendo as três CDRs VLCDR1, VLCDR2 e VLCDR3, em que:

- VLCDR1 compreende ou na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; e

- VLCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 14; SEQ ID No: 81 ou SEQ ID

No: 84; e

- VLCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 15 ou SEQ ID No: 89.

[0046] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 4; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 67 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, mais particularmente de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144.

[0047] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 4; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 70 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, mais particularmente de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144.

[0048] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 4; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 72 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, mais particularmente de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144.

[0049] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 62; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 67 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, mais

particularmente de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144.

[0050] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 62; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 70 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, mais particularmente de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144.

[0051] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 62; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 72 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, mais particularmente de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144.

[0052] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 63; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 67 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, mais particularmente de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144.

[0053] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 63; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 70 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, mais particularmente de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No:

144.

[0054] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 63; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 72 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, mais particularmente de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 144.

[0055] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreende VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 14 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 15.

[0056] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreende VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 14 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 89.

[0057] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreende VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 81 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 15.

[0058] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreende VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 81 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 89.

[0059] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio

variável de cadeia leve de anticorpo compreende VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 84 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 15.

[0060] Em uma modalidade específica da invenção, o domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreende VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 84 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 89.

[0061] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno é um anticorpo humanizado de um anticorpo murino, em particular em que ao menos uma região *framework* (FR1 e/ou FR2 e/ou FR3 e/ou FR4) do domínio variável da cadeia leve e/ou cadeia pesada do anticorpo é derivada de regiões *framework* da cadeia humana, a dita cadeia leve e/ou cadeia pesada compreendendo ainda qualquer combinação de CDRs aqui descrita, ou CDRs do tipo selvagem.

[0062] Os anticorpos do tipo selvagem, citados na presente invenção como 2G1 e 2G4 (tendo a mesma região variável, mas com uma região constante de cadeia pesada diferente) foram definidos e sintetizados partindo de múltiplas opções na sequência de aminoácidos da terceira CDR da cadeia pesada. Diversas sequências do anticorpo suposto foram, assim, geradas, sintetizadas e testadas quanto à sua ligação e quanto às suas propriedades biológicas. Dentro da pluralidade de anticorpos recentemente sintetizados, a presença de sequência dos resíduos de aminoácido “5’ RLIY 3’ “ ou “5’ RLLY 3’” dentro da terceira CDR (de acordo com IMGT) do domínio variável de cadeia pesada foi determinada como altamente implicada na propriedade agonista do anticorpo para a interação RvE1-CMKLR1. Anticorpos tendo uma sequência diferente de resíduos de aminoácidos (como

“5’ RIIY 3’”, “5’ RILY 3’”) mostraram menos capacidade apreciável para serem agonistas da ligação de RvE1 a CMKLR1.

[0063] Os anticorpos anti-CMKLR1 do tipo selvagem sintetizados (citados como 2G1 e 4G1 na presente invenção) são, portanto, um anticorpo quimérico com regiões variáveis murinas e regiões constantes humanas (IgG1 humana para 2G1 ou IgG4 humana para 2G4). 2G1 possui as sequências de aminoácidos seguintes em suas sequências variáveis:

Cadeia pesada:

metdtlllwlllwvpgstgdeVQLVASGGGLVQPGGSLKLSCAA
SGFTFESSYGMSWVRQTPDRRLELVATINRYGGSTIYPDSVKGRFTIS
 RDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCPRLLIYYGNEGDSWGQGTTTLTV
 SS

em que o peptídeo sinal é representado em letras minúsculas, as CDRs são caracteres em negrito (de acordo com Kabat) ou sublinhados (de acordo com IMGT). A sequência completa da cadeia pesada corresponde a SEQ ID No: 10, com o peptídeo sinal, enquanto a SEQ ID No: 9 corresponde à cadeia pesada sem o peptídeo sinal. CDR1, CDR2 e CDR3 de acordo com Kabat correspondem a SEQ ID No: 4, SEQ ID No: 6 e SEQ ID No: 144 respectivamente; enquanto CDR1, CDR2 e CDR3 de acordo com IMGT correspondem a SEQ ID No: 3, SEQ ID No: 5 e SEQ ID No: 7 respectivamente.

[0064] CDR3 pode ser modificada substituindo o resíduo de aminoácido ILE na segunda posição pelo resíduo de aminoácido LEU (segunda posição de acordo com a numeração de Kabat) levando uma cadeia pesada com a sequência:

metdtlllwlllwvpgstgdeVQLVASGGGLVQPGGSLKLSCAA
SGFTFESSYGMSWVRQTPDRRLELVATINRYGGSTIYPDSVKGRFTIS
 RDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCPRLLYYGNEGDSWGQGTTTLT
 VSS

Cadeia leve:

metdtlllwwlllwpvgstgdQIVLTQSPA~~IMS~~ASPGEKVTMTCSA
SSSVSFMHWYQQKSGTSPKRWIY**DTTKLT**SGVPARFSGSGSGTFYSL
 TISSMEAEDAATYYC**QQWNSKPPLT**FGPGTKLELKR

em que o peptídeo sinal é representado em letras minúsculas, as CDRs são caracteres em negrito (de acordo com Kabat) ou sublinhados (de acordo com IMGT). A sequência completa da cadeia leve corresponde a SEQ ID No: 17, com o peptídeo sinal, enquanto a SEQ ID No: 16 corresponde à cadeia pesada sem o peptídeo sinal. CDR1, CDR2 e CDR3 de acordo com Kabat correspondem a SEQ ID No: 12, SEQ ID No: 14 e SEQ ID No: 15 respectivamente; enquanto CDR1, CDR2 e CDR3 de acordo com IMGT correspondem a SEQ ID No: 11, SEQ ID No: 13 e SEQ ID No: 15 respectivamente.

[0065] Como conhecido na técnica, e como exemplificado com o presente anticorpo quimérico, um domínio variável de cadeia pesada e um domínio variável de cadeia leve compreendem, ambos, 3 CDRs (CDR1, CDR2 e CDR3 da extremidade 5' para a extremidade 3' respectivamente) e 4 regiões *framework* (FR1, FR2, FR3 e FR4 da extremidade 5' para a extremidade 3' respectivamente). A humanização do anticorpo murinho pode consistir na humanização de ao menos uma região *framework* dentro da região variável de cadeia leve ou dentro da região variável de cadeia pesada ou ambos. Em uma modalidade específica, diversas regiões *framework* podem ser humanizadas, em particular dentro da região variável de cadeia pesada e dentro da região variável de cadeia leve. As CDRs do tipo selvagem podem ser conservadas, mas as CDRs podem também ser substituídas pelas CDRs já descritas acima. Consequentemente, o composto anti-CKLMR1 de acordo com a invenção pode compreender ao menos 1, ao menos 2, ao menos 3 ou ao menos 4, ou ao menos 5 ou 6 CDRs do tipo selvagem quando as regiões *framework* são humanizadas. Em outras palavras, o composto anti-CMKLR1

é uma versão humanizada do anticorpo quimérico parental 2G1, em que ao menos 1 região *framework* é humanizada, em particular em que ao menos 1 região *framework* e ao menos 1 CDR são humanizadas. Em uma modalidade específica da invenção, as regiões variáveis do anticorpo podem ser associadas com as regiões constantes do anticorpo, por exemplo, as regiões constantes estabelecidas na SEQ ID No: 134 (codificada pela sequência de nucleotídeos de SEQ ID No: 133); SEQ ID No: 136 (codificada pela sequência de nucleotídeos de SEQ ID No: 135); SEQ ID No: 138 (codificada pela sequência de nucleotídeos de SEQ ID No: 137); SEQ ID No: 139; SEQ ID No: 140 e SEQ ID No: 141. Tal combinação é ilustrada com a cadeia leve de SEQ ID No: 142 e da cadeia pesada de SEQ ID No: 143.

[0066] Em uma modalidade em particular da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende ao menos uma região *framework* humanizada dentro de seu domínio variável de cadeia pesada de anticorpo, em que:

- o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende quatro regiões *framework* HFR1, HFR2, HFR3 e HFR4, em que:
 - HFR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 90; SEQ ID No: 91; SEQ ID No: 92 ou SEQ ID No: 93; e/ou
 - HFR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 94; SEQ ID No: 95; SEQ ID No: 96; SEQ ID No: 97; SEQ ID No: 98; SEQ ID No: 99 ou SEQ ID No: 100; e/ou
 - HFR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 101; SEQ ID No: 102; SEQ ID No: 103; SEQ ID No: 104; SEQ ID No: 105 ou SEQ ID No: 106; e/ou
 - HFR4 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 107 ou SEQ ID No: 108.

[0067] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende ao menos uma região *framework* humanizada dentro de seu domínio variável de cadeia leve de anticorpo, em que:

- o domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreende quatro regiões *framework* LFR1, LFR2, LFR3 e LFR4, em que:

- LFR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 109; SEQ ID No: 110; SEQ ID No: 111 ou SEQ ID No: 112; e/ou

- LFR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 113; SEQ ID No: 114; SEQ ID No: 115; SEQ ID No: 116 ou SEQ ID No: 117; e/ou

- LFR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 118; SEQ ID No: 119; SEQ ID No: 120; SEQ ID No: 121; SEQ ID No: 122 ou SEQ ID No: 132; e/ou

- LFR4 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 123 ou SEQ ID No: 124.

[0068] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende ao menos uma região *framework* humanizada dentro de sua região variável de cadeia leve de anticorpo e dentro de sua região variável de cadeia pesada de anticorpo, em que:

- o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende quatro regiões *framework* HFR1, HFR2, HFR3 e HFR4, em que:

- HFR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 90; SEQ ID No: 91; SEQ ID No: 92 ou SEQ ID No: 93; e/ou

- HFR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 94; SEQ ID No: 95; SEQ ID No: 96; SEQ ID No: 97; SEQ ID No: 98; SEQ ID No: 99 ou SEQ ID No: 100; e/ou

- HFR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 101; SEQ ID No: 102; SEQ ID No: 103; SEQ ID No: 104; SEQ ID No: 105 ou SEQ ID No: 106; e/ou

- HFR4 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 107 ou SEQ ID No: 108; e

- o domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreende quatro regiões *framework* LFR1, LFR2, LFR3 e LFR4, em que:

- LFR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 109; SEQ ID No: 110; SEQ ID No: 111 ou SEQ ID No: 112; e/ou

- LFR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 113; SEQ ID No: 114; SEQ ID No: 115; SEQ ID No: 116 ou SEQ ID No: 117; e/ou

- LFR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 118; SEQ ID No: 119; SEQ ID No: 120; SEQ ID No: 121; SEQ ID No: 122 ou SEQ ID No: 132; e/ou

- LFR4 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 123; SEQ ID No: 124.

[0069] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- uma região variável de cadeia pesada compreendendo HFR1 de SEQ ID No: 91; HFR2 de SEQ ID No: 95; HFR3 de SEQ ID No: 102 e HFR4 de SEQ ID No: 108.

[0070] Tal anticorpo pode compreender as CDRs do anticorpo quimérico parental (a saber, HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID

No: 6; HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; LCDR1 de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14 e LCDR3 de SEQ ID No: 15).

[0071] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- uma região variável de cadeia pesada compreendendo HFR1 de SEQ ID No: 92; HFR2 de SEQ ID No: 96; HFR3 de SEQ ID No: 103 e HFR4 de SEQ ID No: 108.

[0072] Tal anticorpo pode compreender as CDRs do anticorpo quimérico parental (a saber, HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID No: 6; HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; LCDR1 de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14 e LCDR3 de SEQ ID No: 15).

[0073] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- uma região variável de cadeia pesada compreendendo HFR1 de SEQ ID No: 92; HFR2 de SEQ ID No: 98; HFR3 de SEQ ID No: 106 e HFR4 de SEQ ID No: 108.

[0074] Tal anticorpo pode compreender as CDRs do anticorpo quimérico parental (a saber, HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID No: 6; HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; LCDR1 de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14 e LCDR3 de SEQ ID No: 15).

[0075] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- uma região variável de cadeia pesada compreendendo HFR1

de SEQ ID No: 93; HFR2 de SEQ ID No: 96; HFR3 de SEQ ID No: 104 e HFR4 de SEQ ID No: 108.

[0076] Tal anticorpo pode compreender as CDRs do anticorpo quimérico parental (a saber, HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID No: 6; HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; LCDR1 de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14 e LCDR3 de SEQ ID No: 15).

[0077] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- uma região variável de cadeia leve compreendendo LFR1 de SEQ ID No: 111; LFR2 de SEQ ID No: 115; LFR3 de SEQ ID No: 120 e LFR4 de SEQ ID No: 124.

[0078] Tal anticorpo pode compreender as CDRs do anticorpo quimérico parental (a saber, HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID No: 6; HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; LCDR1 de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14 e LCDR3 de SEQ ID No: 15).

[0079] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- uma região variável de cadeia leve compreendendo LFR1 de SEQ ID No: 110; LFR2 de SEQ ID No: 114; LFR3 de SEQ ID No: 119 e LFR4 de SEQ ID No: 124.

[0080] Tal anticorpo pode compreender as CDRs do anticorpo quimérico parental (a saber, HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID No: 6; HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; LCDR1 de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14 e LCDR3 de SEQ ID No: 15).

[0081] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- uma região variável de cadeia leve compreendendo LFR1 de SEQ ID No: 110; LFR2 de SEQ ID No: 114; LFR3 de SEQ ID No: 122 e LFR4 de SEQ ID No: 124.

[0082] Tal anticorpo pode compreender as CDRs do anticorpo quimérico parental (a saber, HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID No: 6; HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; LCDR1 de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14 e LCDR3 de SEQ ID No: 15).

[0083] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- uma região variável de cadeia leve compreendendo LFR1 de SEQ ID No: 112; LFR2 de SEQ ID No: 116; LFR3 de SEQ ID No: 121 e LFR4 de SEQ ID No: 124.

[0084] Tal anticorpo pode compreender as CDRs do anticorpo quimérico parental (a saber, HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID No: 6; HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; LCDR1 de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14 e LCDR3 de SEQ ID No: 15).

[0085] Em uma modalidade específica, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia leve de anticorpo humanizado e um domínio variável de cadeia pesada anticorpo humanizado; em que:

- o domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreende:

- VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 4; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 67 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; ou

- VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 4; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 70 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; ou

- VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 4; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 72 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; ou

- VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 62; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 67 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; ou

- VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 62; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 70 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; ou

- VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 62; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 72 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; ou

- VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 63; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 67 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; ou

- VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ

ID No: 63; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 70 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; ou

- VHCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 63; VHCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 72 e VHCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; e

- o domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreende:

- VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 14 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 15; ou

- VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 14 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 89; ou

- VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 81 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 15; ou

- VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 81 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 89;

- VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 84 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 15; ou

- VLCDR1 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ

ID No: 77; VLCDR2 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 84 e VLCDR3 de sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 89.

[0086] Deve-se ressaltar que essas combinações de CDRs (VHCDRs e VLCDRs) podem ser combinadas com outras regiões *framework* humanizadas aqui descritas, em particular com as regiões *framework* seguintes:

- HFR1 de SEQ ID No: 91; HFR2 de SEQ ID No: 95; HFR3 de SEQ ID No: 102 e HFR4 de SEQ ID No: 108; ou

- HFR1 de SEQ ID No: 92; HFR2 de SEQ ID No: 96; HFR3 de SEQ ID No: 103 e HFR4 de SEQ ID No: 108; ou

- HFR1 de SEQ ID No: 92; HFR2 de SEQ ID No: 98; HFR3 de SEQ ID No: 106 e HFR4 de SEQ ID No: 108; ou

- HFR1 de SEQ ID No: 93; HFR2 de SEQ ID No: 96; HFR3 de SEQ ID No: 104 e HFR4 de SEQ ID No: 108; e

- uma região variável de cadeia leve compreendendo LFR1 de SEQ ID No: 111; LFR2 de SEQ ID No: 115; LFR3 de SEQ ID No: 120 e LFR4 de SEQ ID No: 124; ou

- uma região variável de cadeia leve compreendendo LFR1 de SEQ ID No: 110; LFR2 de SEQ ID No: 114; LFR3 de SEQ ID No: 119 e LFR4 de SEQ ID No: 124; ou

- uma região variável de cadeia leve compreendendo LFR1 de SEQ ID No: 110; LFR2 de SEQ ID No: 114; LFR3 de SEQ ID No: 122 e LFR4 de SEQ ID No: 124; ou

- uma região variável de cadeia leve compreendendo LFR1 de SEQ ID No: 112; LFR2 de SEQ ID No: 116; LFR3 de SEQ ID No: 121 e LFR4 de SEQ ID No: 124.

[0087] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou

mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No: 22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 24; SEQ ID No: 25; SEQ ID No: 26; SEQ ID No: 27; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 31; SEQ ID No: 32; SEQ ID No: 33; SEQ ID No: 34; SEQ ID No: 35; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; SEQ ID No: 39; SEQ ID No: 40; SEQ ID No: 41 ou SEQ ID No: 42; em particular o domínio variável de cadeia pesada compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No: 22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; ou SEQ ID No: 39.

[0088] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia leve compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61; em particular o domínio variável de cadeia pesada compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59 ou SEQ ID No: 60.

[0089] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada compreendendo HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID No: 6, HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, HFR1 de SEQ ID No: 90; HFR2 de SEQ ID No: 94; HFR3 de SEQ ID No: 101 e HFR4 de SEQ ID No: 107; e

- um domínio variável de cadeia leve compreendendo LCDR1 de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14, LCDR3 de SEQ ID No: 15, LFR1 de SEQ ID No: 109; LFR2 de SEQ ID No: 113; LFR3 de SEQ ID No: 118 e LFR4 de SEQ ID No: 123.

[0090] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada de SEQ ID No: 10 e um domínio variável de cadeia leve de SEQ ID No: 17.

[0091] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No: 22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 24; SEQ ID No: 25; SEQ ID No: 26; SEQ ID No: 27; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 31; SEQ ID No: 32; SEQ ID No: 33; SEQ ID No: 34; SEQ ID No: 35; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; SEQ ID No: 39; SEQ ID No: 40; SEQ ID No: 41 ou SEQ ID No: 42; em particular o domínio variável de cadeia pesada compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No: 22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; ou SEQ ID No: 39;

- um domínio variável de cadeia leve compreendendo ou

consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61; em particular o domínio variável de cadeia pesada compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59 ou SEQ ID No: 60.

[0092] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada em que HFR1 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 19 (E/Q VQLV A/E/Q SG G/A/S G L/E V/L Q/K P/K PG G/A S L/V K/R/V L/V SC A/K AS).

[0093] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada em que HFR2 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 125 (WVR Q/A TP D/G R/K R/G/Q LELVA).

[0094] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada em que HFR3 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 126 (R F/V T/V I S/T RDN A/S K/T/V N/S TLY L/M Q/E M/L/I SSL K/R S/A EDTA M/V YYCPR).

[0095] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada em que HFR4 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 127 (WGQGT T/L L/V TVSS).

[0096] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada em que LFR1 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 128 (Q/A/E I V/Q LTQSP A/S/D I/S/F/T M/L/Q S A/S/L S/V P/V/T G/P E/D/K K/R V/A T M/I/L TC).

[0097] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada em que LFR2 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 129 (WYQQK S/P G/D T/K S/A P K/R RWIY).

[0098] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada em que LFR3 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 130 (G V/I P A/S RFSGSGSGT F/D Y S/T LTI S/N S M/L E/Q A/P ED A/F A T/V YYC).

[0099] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada em que LFR4 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 131 (FG P/G GTK L/V E L/I KR).

[00100] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 20; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00101] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 21; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00102] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 22; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43;

SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00103] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 23; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00104] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 24; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00105] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 25; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00106] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 26; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00107] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 27; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID

No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00108] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 28; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00109] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 29; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00110] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 30; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou

consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00111] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 31; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00112] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 32; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00113] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou

mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 33; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00114] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 34; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00115] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 35; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52;

SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00116] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 36; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00117] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 37; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00118] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 38; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00119] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 39; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00120] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 40; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00121] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou

fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 41; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00122] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 42; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

[00123] A invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento de uma doença em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida, e/ou uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, em particular doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória intestinal, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea; doenças autoimunes tais como diabetes, em

particular diabetes tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia grave; doenças infecciosas tais como sepse, peritonite; doenças degenerativas; transtornos na cicatrização de feridas, síndrome do olho seco: doenças do câncer, em particular cânceres sólidos e líquidos, cânceres metastáticas, em particular carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer de pulmão ou câncer mieloide, em particular leucemia, em particular um câncer em que células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1. Em uma modalidade específica, a invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento de uma doença em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida, e/ou uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, em particular doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória intestinal, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea; doenças autoimunes tais como diabetes, em particular diabetes tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia grave; doenças infecciosas tais como sepse, peritonite; doenças degenerativas; transtornos na cicatrização de feridas e síndrome do olho seco. Em outra modalidade em particular da invenção, a invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento um câncer, em particular cânceres sólidos e líquidos, cânceres metastáticos, em particular carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer de pulmão ou câncer mieloide, em particular leucemia, em particular um câncer em que células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou

superexpressam CMKLR1.

[00124] Em uma modalidade específica, a invenção refere-se a um composto anti-CMKLR1 selecionado a partir do grupo de um anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno, que se liga especificamente a CMKLR1, o dito composto compreendendo:

- um domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreendendo as três CDRs VHCDR1, VHCDR2 e VHCDR3, em que:

- VHCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 3; SEQ ID No: 4; SEQ ID No: 62; SEQ ID No: 63; SEQ ID No: 64 ou SEQ ID No: 65; e

- VHCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 5; SEQ ID No: 6; SEQ ID No: 66; SEQ ID No: 67; SEQ ID No: 68; SEQ ID No: 69; SEQ ID No: 70; SEQ ID No: 71 ou SEQ ID No: 72; e

- VHCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 7; SEQ ID No: 8; SEQ ID No: 73; SEQ ID No: 74; SEQ ID No: 75; SEQ ID No: 144; SEQ ID No: 145; SEQ ID No: 146; SEQ ID No: 147; SEQ ID No: 148; SEQ ID No: 149; SEQ ID No: 150 ou SEQ ID No: 151; e/ou

- um domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreendendo as três CDRs VLCDR1, VLCDR2 e VLCDR3, em que:

- VLCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 11; SEQ ID No: 12; SEQ ID No: 76; SEQ ID No: 77; SEQ ID No: 78; SEQ ID No: 79 ou SEQ ID No: 80; e

- VLCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 13; SEQ ID No: 14; SEQ ID No: 81; SEQ ID No: 82; SEQ ID No: 83; SEQ ID No: 84; SEQ ID No: 85; SEQ ID No: 86; SEQ ID No: 87 ou SEQ ID No: 88; e

- VLCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 15 ou SEQ ID No: 89;

para uso na prevenção e/ou no tratamento de uma doença em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida, e/ou uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, em particular doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória intestinal, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea; doenças autoimunes tais como diabetes, em particular diabetes tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia grave; doenças infecciosas tais como sepse, peritonite; doenças degenerativas; transtornos na cicatrização de feridas, síndrome do olho seco: doenças do câncer, em particular cânceres sólidos e líquidos, cânceres metastáticas, em particular carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer de pulmão ou câncer mieloide, em particular leucemia, em particular um câncer em que células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1. Em uma modalidade específica, a invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento de uma doença em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida, e/ou uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, em particular doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória intestinal, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea; doenças autoimunes tais como diabetes, em particular diabetes tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia grave; doenças infecciosas tais

como sepse, peritonite; doenças degenerativas; transtornos na cicatrização de feridas e síndrome do olho seco. Em outra modalidade em particular da invenção, a invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento um câncer, em particular cânceres sólidos e líquidos, em particular carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer mieloide, em particular leucemia, em particular um câncer em que células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1.

[00125] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada compreendendo HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID No: 6, HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148, HFR1 de SEQ ID No: 90; HFR2 de SEQ ID No: 94; HFR3 de SEQ ID No: 101 e HFR4 de SEQ ID No: 107; e

- um domínio variável de cadeia leve compreendendo LCDR1 de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14, LCDR3 de SEQ ID No: 15, LFR1 de SEQ ID No: 109; LFR2 de SEQ ID No: 113; LFR3 de SEQ ID No: 118 e LFR4 de SEQ ID No: 123;

para uso no tratamento terapêutico e/ou na prevenção de uma doença em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida, e/ou uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, em particular doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória intestinal, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea; doenças autoimunes tais como diabetes, em particular diabetes tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose

múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia grave; doenças infecciosas tais como sepse, peritonite; doenças degenerativas; transtornos na cicatrização de feridas, síndrome do olho seco: doenças do câncer, em particular cânceres sólidos e líquidos, cânceres metastáticas, em particular carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer de pulmão ou câncer mieloide, em particular leucemia, em particular um câncer em que células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1. Em uma modalidade específica, a invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento de uma doença em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida, e/ou uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, em particular doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória intestinal, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea; doenças autoimunes tais como diabetes, em particular diabetes tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia grave; doenças infecciosas tais como sepse, peritonite; doenças degenerativas; transtornos na cicatrização de feridas e síndrome do olho seco. Em outra modalidade em particular da invenção, a invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento um câncer, em particular cânceres sólidos e líquidos, em particular carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer mieloide, em particular leucemia, em particular um câncer em que células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1.

[00126] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou

fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende um domínio variável de cadeia pesada de SEQ ID No: 10 e um domínio variável de cadeia leve de SEQ ID No: 17;

para uso na prevenção e/ou no tratamento de uma doença em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida, e/ou uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, em particular doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória intestinal, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea; doenças autoimunes tais como diabetes, em particular diabetes tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia grave; doenças infecciosas tais como sepse, peritonite; doenças degenerativas; transtornos na cicatrização de feridas, síndrome do olho seco: doenças do câncer, em particular cânceres sólidos e líquidos, cânceres metastáticas, em particular carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer de pulmão ou câncer mieloide, em particular leucemia, em particular um câncer em que células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1. Em uma modalidade específica, a invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento de uma doença em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida, e/ou uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, em particular doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória intestinal, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea; doenças autoimunes tais como diabetes, em particular diabetes

tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia grave; doenças infecciosas tais como sepse, peritonite; doenças degenerativas; transtornos na cicatrização de feridas e síndrome do olho seco. Em outra modalidade em particular da invenção, a invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento um câncer, em particular cânceres sólidos e líquidos, em particular carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer mieloide, em particular leucemia, em particular um câncer em que células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1.

[00127] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada compreendendo HCDR1 de SEQ ID No: 4; HCDR2 de SEQ ID No: 6, HCDR3 de SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148; e

- HFR1 compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 91; SEQ ID No: 92 ou SEQ ID No: 93; e

- HFR2 compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 95; SEQ ID No: 96; SEQ ID No: 97; SEQ ID No: 98; SEQ ID No: 99 ou SEQ ID No: 100; e

- HFR3 compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 102; SEQ ID No: 103; SEQ ID No: 104; SEQ ID No: 105 ou SEQ ID No: 106; e

- HFR4 que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 108; e

- um domínio variável de cadeia leve compreendendo LCDR1

de SEQ ID No: 12; LCDR2 de SEQ ID No: 14, LCDR3 de SEQ ID No: 15, e em que

- LFR1 compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 110; SEQ ID No: 111 ou SEQ ID No: 112; e

- LFR2 compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 114; SEQ ID No: 115; SEQ ID No: 116 ou SEQ ID No: 117; e

- LFR3 compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 119; SEQ ID No: 120; SEQ ID No: 121; SEQ ID No: 122 ou SEQ ID No: 132; e

- LFR4 que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 124.

[00128] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno compreende:

- um domínio variável de cadeia pesada compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No: 22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 24; SEQ ID No: 25; SEQ ID No: 26; SEQ ID No: 27; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 31; SEQ ID No: 32; SEQ ID No: 33; SEQ ID No: 34; SEQ ID No: 35; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; SEQ ID No: 39; SEQ ID No: 40; SEQ ID No: 41 ou SEQ ID No: 42; em particular o domínio variável de cadeia pesada compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No: 22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; ou SEQ ID No: 39;

- um domínio variável de cadeia leve compreendendo ou consistindo nas sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43;

SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61; em particular o domínio variável de cadeia pesada compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59 ou SEQ ID No: 60.

[00129] para uso na prevenção e/ou no tratamento de uma doença em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida, e/ou uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, em particular doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória intestinal, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea; doenças autoimunes tais como diabetes, em particular diabetes tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia grave; doenças infecciosas tais como sepse, peritonite; doenças degenerativas; transtornos na cicatrização de feridas, síndrome do olho seco; doenças do câncer, em particular cânceres sólidos e líquidos, câncer metastático, em particular carcinoma, em particular carcinoma mamário, cânceres de pulmão ou carcinoma de cólon, ou câncer mieloide, em particular leucemia, em particular um câncer em que células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1. Em uma modalidade específica, a invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento de uma doença em que a resolução da

inflamação é retardada ou interrompida, e/ou uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, em particular doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória intestinal, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea; doenças autoimunes tais como diabetes, em particular diabetes tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia grave; doenças infecciosas tais como sepse, peritonite; doenças degenerativas; transtornos na cicatrização de feridas e síndrome do olho seco. Em outra modalidade em particular da invenção, a invenção refere-se a qualquer um dos compostos definidos acima da invenção, para uso na prevenção e/ou no tratamento um câncer, em particular cânceres sólidos e líquidos, em particular carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer mieloide, em particular leucemia, em particular um câncer em que células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1.

[00130] Em uma modalidade específica da invenção, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno possui:

- um domínio variável de cadeia pesada que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No: 22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 24; SEQ ID No: 25; SEQ ID No: 26; SEQ ID No: 27; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 31; SEQ ID No: 32; SEQ ID No: 33; SEQ ID No: 34; SEQ ID No: 35; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; SEQ ID No: 39; SEQ ID No: 40; SEQ ID No: 41 ou SEQ ID No: 42; em particular o domínio variável de cadeia pesada compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No:

22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; ou SEQ ID No: 39; e

- um domínio variável de cadeia leve que compreende ou consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61; em particular o domínio variável de cadeia pesada compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59 ou SEQ ID No: 60;

para uso no tratamento colite ou doença de Crohn em um indivíduo que é refratário ao tratamento com corticosteroides e/ou imunossuppressores.

[00131] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um composto anti-CMKLR1, como aqui definido, que aumenta a secreção de citocinas anti-inflamatórias, em particular a secreção de I10, em particular por macrófagos. Em outro aspecto, a invenção refere-se a um composto anti-CMKLR1, como aqui definido, que aumenta a secreção de citocinas anti-inflamatórias, em particular a secreção de CCL17, em particular por macrófagos. Em outro aspecto, a invenção refere-se a um composto anti-CMKLR1, como aqui definida, que aumenta a secreção de citocinas anti-inflamatórias, em particular a secreção de I10 e/ou CCL17, em particular por macrófagos. A invenção também se refere a um composto anti-CMKLR1, como aqui definido, que inibe a secreção de citocinas pró-inflamatórias, em particular IL12, em particular por macrófagos. A secreção de citocinas pode ser avaliada

por um método conhecido na técnica, ou pelos métodos descritos nos exemplos da presente invenção.

[00132] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um composto anti-CMKLR1, como aqui definido, que inibe a proliferação e/ou a ativação de células dendríticas, em particular células dendríticas humanas. A proliferação e/ou ativação de células dendríticas pode ser avaliada pelo método descrito nos exemplos da presente invenção.

[00133] Em outro aspecto, a invenção refere-se a uma composição que compreende um composto anti-CMKLR1 como aqui descrito, em particular uma composição farmacêutica que compreende um composto anti-CMKLR1 de acordo com a invenção e mais um agente terapêutico, ou veículo farmacêutico aceitável. Em uma modalidade específica, a invenção refere-se a uma composição que compreende um composto anti-CMKLR1 de acordo com a invenção e um agente terapêutico selecionado a partir do grupo que consiste em agente imunomodulador, bloqueador de checkpoint imunológico, ativador de checkpoint imunológico, anticorpo, em particular anticorpo anti-CD137 (que direcionado para 4-1BB, um membro da superfamília de receptores de TNF também conhecido como CD137) ou anticorpo anti-SIRPa (P84 - anti-SIRPa de camundongo da Merck Millipore).

[00134] Em outro aspecto, a invenção refere-se a uma combinação de compostos que compreendem um composto anti-CMKLR1 como aqui descrito, em particular uma composição farmacêutica que compreende um composto anti-CMKLR1 de acordo com a invenção e um composto anti-PD1 ou anti-PDL1, em particular um composto anti-PD1; tal composto é selecionado, em particular, a partir do grupo que consiste em um anticorpo, um fragmento de anticorpo de ligação ao antígeno, um mimético de anticorpo de ligação ao antígeno, uma pequena molécula como um aptâmero ou um peptídeo, um anticorpo modificado, como, entre outros, um anticorpo humanizado ou um quimérico, capaz de se ligar a PD1 ou PDL1.

[00135] Em outro aspecto, a invenção refere-se a uma combinação de compostos que compreendem um composto anti-CMKLR1 como aqui descrito, em particular uma composição farmacêutica que compreende um composto anti-CMKLR1 de acordo com a invenção e um composto anti-SIRPa; tal composto é selecionado, em particular, a partir do grupo que consiste em um anticorpo, um fragmento de anticorpo de ligação ao antígeno, um mimético de anticorpo de ligação ao antígeno, uma pequena molécula como um aptâmero ou um peptídeo, um anticorpo modificado, como, entre outros, um anticorpo humanizado ou um quimérico, capaz de se ligar a SIRPa, em particular SIRPa humano.

[00136] Em outro aspecto, a invenção diz respeito ao uso terapêutico do composto anti-CMKLR1 da invenção, especialmente para induzir e/ou aumentar a resolução da inflamação, em particular para induzir e/ou aumentar a resolução da inflamação quando a dita resolução é retardada ou interrompida, em vista de tratar doenças em que a extensão da inflamação é patológica, ou em que a duração da resolução da inflamação é patológico.

[00137] Em uma modalidade específica da invenção, o composto anti-CKLMR1 liga-se a CMKLR1 com uma afinidade (valor de KD) de pelo menos 10^{-8} M, mais preferivelmente com uma afinidade de pelo menos 10^{-9} M. A ligação específica entre o anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno da invenção e CMKLR1 (ou uma região de CMKLR1 que compreenda a terceira alça extracelular, incluindo sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 2 e 18) implica que o anticorpo exibe afinidade apreciável por CMKLR1. “Afinidade apreciável” inclui a ligação com uma afinidade de aproximadamente 10^{-8} M (KD) ou maior forte. De preferência, a ligação é considerada específica quando a afinidade de ligação é entre 10^{-8} M e 10^{-12} M, opcionalmente entre 10^{-9} M e 10^{-10} M, em particular pelo menos 10^{-9} M. Se um domínio de ligação reage especificamente com ou liga-se a um alvo

pode ser testado rapidamente, entre outros, comparando a reação do dito domínio de ligação com uma proteína alvo ou antígeno com a reação do dito domínio com outras proteínas ou antígenos diferentes a proteína alvo. Tal anticorpo da invenção liga-se especificamente a CMKLR1 e possui um efeito agonista no sentido da interação entre RvE1 e CMKLR1. Métodos para determinar a especificidade e afinidade de anticorpos por inibição competitiva são conhecidos na técnica (ver, p. ex., Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1998); Colligan *et al.*, *Current Protocols in Immunology*, Green Publishing Assoc., NY (1992; 1993); Muller, *Meth. Enzym.*, 92:589-601 (1983)). Esses métodos incluem, entre outros, análise Biacore, análise Blitz, citometria de fluxo e ensaio ELISA.

[00138] Em uma modalidade específica da invenção, o composto anti-CMKLR1 liga-se especificamente a um epítopo localizado dentro da terceira alça extra de CMKLR1, em particular a um epítopo localizado dentro da sequência de resíduos de aminoácidos estabelecida na SEQ ID No: 2 ou SEQ ID No: 18, em particular SEQ ID No: 2. A ligação de um composto anti-CMKLR1 dentro dessa região particular de CMKLR1 pode ter uma propriedade agonista em CMKLR1, simulando, com isso, a ligação de RvE1 a CMKLR1.

[00139] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno, conforme definido acima, com capacidade agonista no sentido da interação entre RvE1 e CMKLR1, para uso como medicamento.

[00140] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno, como definido acima, tendo a capacidade para induzir a ativação da(s) proteína(s) Akt e/ou

Erk *in vitro* e/ou *in vivo*. A ativação dessas proteínas pode ser avaliada pelos métodos descritos nos exemplos da presente invenção. Em particular, o anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno é capaz de ativar a proteína Akt e/ou Erk, ou ambas, em macrófagos, em particular em macrófagos humanos.

[00141] A presente invenção também se refere a um método de tratamento em um indivíduo com necessidade do mesmo, o qual compreende administrar ao dito indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno como definido acima, como uma capacidade agonista no sentido da interação entre RvE1 e CMKLR1, ou em outras palavras, é um fator agonista ou modulador do tipo RvE1.

[00142] Modificar a polarização de macrófagos para favorecer células anti-inflamatórias podem ser útil em inúmeras patologias ou situações. Como descrito acima, essa modificação é especialmente útil no contexto de uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, incluindo, entre outras, doenças inflamatórias agudas e doenças inflamatórias crônicas, doença inflamatória intestinal, doença de Crohn, asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea, diabetes, em particular diabetes tipo I, peritonite, psoríase, carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, cânceres, cânceres metastáticos, câncer de pulmão, doença degenerativa, doença infecciosa, em particular sepse, doenças autoimunes.

[00143] A presente invenção também se relata ao uso de um anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno como definido acima, com uma capacidade agonista no sentido da interação entre RvE1 e CMKLR1 para produção de um medicamento.

[00144] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno, como, entre outros, um anticorpo humanizado ou quimérico, como definido acima, para se uso no tratamento uma doença inflamatória crônica, em particular para o tratamento de colite crônica.

[00145] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno como definido acima, com uma atividade agonista no sentido da interação entre RvE1 e CMKLR1 para uso no tratamento de resolução retardada ou interrompida de uma condição inflamatória, em particular uma doença inflamatória em que sua resolução é retardada ou interrompida, e/ou no tratamento ou na prevenção de uma doença selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, incluindo, entre outras, doenças inflamatórias agudas e doenças inflamatórias crônicas, doença inflamatória intestinal, doença de Crohn, asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea, diabetes, em particular diabetes tipo I, peritonite, psoríase, carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, cânceres, doença degenerativa, doença infecciosa, em particular sepse, doenças autoimunes.

[00146] Neste relatório descritivo, “um atraso ou interrupção da resolução de uma condição inflamatória” ocorre quando a resolução da inflamação é retardada ou interrompida em comparação a uma resolução normal (ou seja, a resolução ocorrida em um paciente que apresenta resolução normal após um evento inflamatório). Um atraso ou defeito na resolução pode resultar em maior penetração de granulócitos no sítio inflamatório. Consequentemente, um atraso ou defeito na resolução pode ser avaliado pela quantificação de granulócitos no sítio inflamatório. A população de

granulócitos pode ser medida, por exemplo, por histologia, citometria ou técnicas bioquímicas indireta tais como quantificação de elastase por imunoenensaio enzimático ou quantificação molecular por PCR do receptor 1 de granulócitos). Um atraso ou defeito na resolução pode também ser avaliado pela determinação de um atraso na apoptose de granulócitos, medido, por exemplo, por citologia utilizando anticorpos específicos contra anexina 5. Um defeito ou um atraso na resolução da inflamação pode também ser determinado por quantificação da síntese de citocinas pró-inflamatórias tais como TNF-alfa, IL8 ou IL12 e citocinas anti-inflamatórias tais como IL-10. A secreção de citocinas pode ser avaliada por imunoenensaio enzimático ou por PCR. Um defeito ou um atraso na resolução da inflamação pode também ser determinado avaliando a ativação de fatores de transcrição envolvidos na síntese de citocinas inflamatórias, tais como NF-kappa B, que pode ser medido, por exemplo, por translocação nuclear ou por *Western blotting* e/ou pela quantificação do nível de degradação de IkappaB). Um defeito ou um atraso na resolução da inflamação pode também ser determinado pela quantificação de mediadores pró-resolutivos especializados (tais como lipoxinas, resolvinas, protectinas ou maresinas) ou seus precursores (como 17-HDOHE ou 14-HDOHE) por espectrometria de massa ou imunoenensaio enzimático. Um defeito ou um atraso da resolução resulta, então, em um defeito na síntese de um ou mais desses mediadores. Um defeito ou atraso na resolução pode também ser determinado quando a expressão das moléculas dos receptores da resolução está diminuída. Esses receptores podem ser selecionados a partir do grupo que compreende ALX, CMK1R1, GPR32 ou GPR18. Como alternativa ou complemento, a internalização e processamento desses receptores no citoplasma podem também ser avaliados. Como alternativa ou complemento, a expressão de alguns receptores de citocinas inflamatórias ou lipídios pode também ser avaliada, uma superexpressão comparada a uma condição normal sendo significativa de um atraso ou um

defeito na resolução da inflamação. Essas condições podem ser medidas por histologia, citologia ou PCR. O defeito na resolução pode também resultar em diminuição ou inibição da mudança de macrófagos M1 para M2, danos à fagocitose ou eferocitose das mesmas células. Consequentemente, um atraso ou um defeito da resolução pode ser avaliado analisando a mudança de macrófagos M1 para M2 em uma condição específica quando comparada a uma condição normal, como exemplificado nos exemplos da presente invenção.

[00147] De acordo com uma modalidade em particular, o composto anti-CMKLR1 pode ser utilizado para tratar um indivíduo com um câncer selecionado a partir do grupo que consiste em câncer de mama, em particular carcinoma mamário, melanoma, câncer de cólon, em particular carcinoma de cólon, leucemia, em particular leucemia mieloide aguda, em particular quando as células cancerosas superexpressam CMKLR1.

[00148] Em uma modalidade, a invenção refere-se a um anticorpo anti-CMKLR1 humano ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno como definido acima, para seus usos como definidos acima, em que o dito anticorpo anti-CMKLR1 humano ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo modificado ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno da invenção é administrado a um paciente que apresenta um tumor positivo para CMKLR1.

[00149] O anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo da invenção pode ser administrado por uma variedade de vias adequadas, p. ex., intravenosa (IV), subcutânea (SC) ou intramuscular (IM) ao indivíduo. O composto anti-CMKLR1 pode ser administrado isoladamente ou em combinação com outro agente terapêutico, p. ex., a segundo anticorpo monoclonal humano ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. Em outro exemplo, o anticorpo é administrado junto com outro agente, por

exemplo, um agente imunossupressor, um agente estimulante da eritropoiese (ESA), em combinação com composições de células terapêuticas e similares. Em uma modalidade, a invenção refere-se a um composto anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno para seu uso como definido acima, em que o anticorpo anti-CMKLR1 ou fragmento de ligação ao antígeno é combinado com um segundo agente terapêutico.

[00150] A administração do segundo agente terapêutico pode ser simultânea ou não com a administração do composto anti-CMKLR1. Dependendo da natureza do segundo agente, a coadministração pode ser preparada na forma de um fármaco combinado (produto), também conhecido como um “combo”. Um combo é uma combinação em dose fixa que inclui dois ou mais ingredientes farmacêuticos ativos combinados em uma forma farmacêutica única, a qual é fabricada e distribuída em doses fixas. Mas o esquema posológico e/ou a vida de administração podem também diferir.

[00151] Em uma modalidade preferida, esse segundo agente terapêutico é selecionado a partir do grupo que consiste em agentes quimioterápicos, agentes radioterápicos, agentes imunoterapêuticos, agentes de terapia celular (tais como células T-CAR), antibióticos e probióticos.

[00152] Em particular, os agentes imunoterapêuticos úteis no contexto da invenção são selecionados a partir do grupo que consiste em vacinas terapêuticas (DNA, RNA ou vacinas peptídicas), bloqueadores ou ativadores de *checkpoints* imunológicos, em particular de células imunes adaptativas (linfócitos T ou B) ou imunoconjugados tais como conjugados fármaco-antibiótico.

[00153] Neste relatório descritivo, o termo “agentes imunoterapêuticos” refere-se em particular a agentes que poderiam ir de vacinas contra câncer derivadas de fenômenos biológicos interessantes a agentes terapêuticos eficazes incluindo: fatores de crescimento de células T

para aumentar o número e o repertório de células T virgens, fatores de crescimento para aumentar o número de células dendríticas (DCs), agonistas para ativar DCs e outras células apresentadoras de antígenos (APCs), adjuvantes para permitir e aumentar vacinas contra câncer, agonistas para ativar e estimular células T, inibidores do bloqueio de *checkpoints* por células T, fatores de crescimento de células T para aumentar o crescimento e a sobrevivência de células T imunes, agentes para inibir, bloquear ou neutralizar células do câncer e citocina imunossupressora derivada de células imunes.

[00154] Inúmeros bloqueadores ou ativadores de *checkpoints* imunológicos são conhecidos na técnica. No contexto da invenção, exemplos de bloqueadores ou ativadores de *checkpoints* imunológicos de células imunes adaptativas (linfócitos B e T) que poderiam ser úteis são anti-PDL1, anti-PD1, anti-CTLA4, anti-SIRPa; anti-CD137, anti-CD2, anti-CD28, anti-CD40, anti-HVEM, anti-BTLA, anti-CD160, anti-TIGIT, anti-TIM-1/3, anti-LAG-3, anti-2B4, e anti-OX40, agonista de anti-CD40, CD40-L, agonistas de TLR, anti-ICOS, agonistas do receptor ICOS-L e células B, em particular anti-CD137 e anti-SIRPa. Em uma modalidade específica da invenção, o segundo agente terapêutico é um anti-PDL1 ou um anti-PD1 composto, em particular um composto anti-PD1 e, mais particularmente, um anticorpo anti-PD1. Em uma modalidade específica da invenção, o segundo agente terapêutico é um composto anti-SIRPa, em particular um anticorpo anti-SIRPa

[00155] O dito agente imunoterapêutico pode também ser um anticorpo direcionado a um antígeno tumoral, particularmente selecionado a partir do grupo que consiste em anti-Her2, anti-EGFR, anti-CD20, anti-CD19, anti-CD52.

[00156] O anticorpo pode ser fornecido em uma dose eficaz entre aproximadamente 1 ng/kg de peso corporal e 30 mg/kg de peso corporal, ou mais. Em modalidades específicas, a dose pode variar de 1 µg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, opcionalmente de 10 µg/kg até 10 mg/kg ou de

100 µg/kg até 5 mg/kg.

[00157] O termo “dose eficaz” ou “dosagem eficaz” ou “quantidade eficaz” é definido como uma quantidade suficiente para alcançar ou ao menos alcançar parcialmente o efeito desejado. O termo “dose eficaz” destina-se a abranger uma quantidade suficiente para curar ou ao menos parar parcialmente a doença e suas complicações ou para aliviar os sintomas da doença em um paciente que já sofre da doença. As quantidades ou doses eficazes para esse uso dependerão da condição a ser tratada, do anticorpo construído entregue, do contexto terapêutico e objetivos, da gravidade da doença, de terapia anterior, da história clínica e resposta ao agente terapêutico do paciente, da via de administração, do tamanho (peso corporal, superfície corporal ou tamanho do órgão) e/ou condição (a idade e saúde em geral) do paciente e do estado geral do próprio sistema imune do paciente. A dose apropriada pode ser ajustada de tal modo que possa administrada ao paciente uma vez ou ao longo de várias administrações, e a fim de obter o efeito terapêutico ótimo.

[00158] A administração para tais efeitos pode ser repetida se necessário, p. ex., diariamente, duas vezes por semana, semanalmente, duas vezes por mês, mensalmente ou conforme necessário durante recidivas.

[00159] Em outro aspecto, a invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo como definido acima e um veículo farmaceuticamente aceitável.

[00160] Neste relatório descritivo, uma “composição farmacêutica” destina-se a abranger uma composição adequada para administração a um indivíduo ou paciente, tal como um mamífero, especialmente um humano. Em geral, uma “composição farmacêutica” é estéril e normalmente livre de contaminantes que sejam capazes de provocar uma resposta indesejável no indivíduo (p. ex., o(s) composto(s) na composição farmacêutica é/são de grau

farmacêutico). As composições farmacêuticas podem ser criadas para administração a indivíduos ou pacientes com necessidade do mesmo através de várias vias de administração diferentes, incluindo, oral, bucal, retal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, intratecal e similares.

[00161] Neste relatório descritivo, um “veículo farmaceuticamente aceitável” destina-se a abranger um excipiente, diluente, veículo e adjuvante, úteis na preparação de uma composição farmacêutica, que são em geral seguros, não tóxicos e nem indesejáveis biologicamente nem de outros modos, e incluem um excipiente, diluente, veículo e adjuvante que são aceitáveis para uso veterinário, bem como uso farmacêutico para humanos. Um “veículo farmaceuticamente aceitável” neste relatório descritivo inclui tanto um como mais de um de tais excipientes, diluentes, veículos e adjuvantes.

[00162] Em particular, a invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende, como ingrediente ativo, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo como definido acima e um veículo farmaceuticamente aceitável.

[00163] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um meio terapêutico, em particular um meio de produto combinado, o qual compreende como ingredientes ativos: um anticorpo anti-SIRPa ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou mimético de anticorpo de ligação ao antígeno, como definido acima, e um segundo agente terapêutico, em que os ditos ingredientes ativos são formulados para terapia separada, sequencial ou combinada, em particular para uso combinado ou sequencial.

[00164] Em particular, a invenção refere-se a um produto combinado que compreende um composto anti-CMKLR1, como definido acima, e um segundo agente terapêutico para uso simultâneo, separado ou sequencial como medicamento.

[00165] Em uma modalidade, a invenção refere-se a um produto

combinado como definido acima, em que o segundo agente terapêutico é selecionado a partir do grupo que consiste em agentes quimioterápicos, agentes radioterápicos, agentes de terapia celular, agentes imunoterapêuticos, antibióticos e probióticos.

[00166] Em uma modalidade, a invenção refere-se a um produto combinado como definido acima, em que o dito agente imunoterapêutico é selecionado a partir do grupo que consiste em vacinas terapêuticas, bloqueadores ou ativadores de *checkpoints* imunológicos, em particular de células imunes adaptativas (linfócitos T e B) e conjugados fármaco-anticorpo.

[00167] Em uma modalidade, a invenção refere-se a um produto combinado como definido acima, em que o dito bloqueador ou ativador de *checkpoints* imunológicos de células imunes adaptativas (linfócitos T e B) é selecionado a partir do grupo que consiste em anti-PDL1, anti-PD1, anti-SIRPa, anti-CTLA4, anti-CD137, anti-CD2, anti-CD28, anti-CD40, anti-HVEM, anti-BTLA, anti-CD160, anti-TIGIT, anti-TIM-1/3, anti-LAG-3, anti-2B4, e anti-OX40, agonista de anti-CD40, CD40-L, agonistas de TLR, anti-ICOS, agonistas do receptor de ICOS-L e células B, em particular selecionado a partir do grupo que consiste em anti-PDL1, anti-PD1 e anti-CD137. Em uma modalidade específica da invenção, o segundo agente terapêutico é um anti-PDL1 ou um composto anti-PD1, em particular um composto anti-PD1 e, mais particularmente, um anticorpo anti-PD1. Em uma modalidade específica da invenção, o segundo agente terapêutico é um composto anti-SIRPa, em particular um anticorpo anti-SIRPa.

[00168] Em uma modalidade, o dito agente imunoterapêutico é um anticorpo direcionado para um antígeno tumoral, particularmente selecionado a partir do grupo que consiste em anti-Her2, anti-EGFR, anti-CD20, anti-CD19, anti-CD52.

[00169] Em um aspecto, a invenção refere-se a um produto combinado, como definido acima, para uso simultâneo, separado ou sequencial no

tratamento de qualquer condição suscetível a ser melhorada ou evitada modificando a polarização de macrófagos para macrófagos anti-inflamatórios.

[00170] Em uma modalidade, a invenção refere-se a um método de tratamento de qualquer condição suscetível a ser melhorada ou evitada modificando a polarização de macrófagos para macrófagos anti-inflamatórios em um indivíduo com necessidade do mesmo, o qual compreende administrar simultânea, separada ou sequencialmente ao dito indivíduo uma quantidade eficaz de um produto combinado como definido acima.

[00171] Em uma modalidade, a invenção refere-se ao uso de um produto combinado, como definido acima, na produção de um medicamento para o tratamento de qualquer condição suscetível a ser melhorada ou evitada modificando a polarização de macrófagos para macrófagos anti-inflamatórios.

[00172] Em um aspecto, a invenção refere-se a um produto combinado, como definido acima, para uso simultâneo, separado ou sequencial no tratamento de uma patologia selecionada a partir do grupo que consiste em doenças inflamatórias, incluindo, entre outras doenças inflamatórias agudas e doenças inflamatórias crônicas, doença inflamatória intestinal, doença de Crohn, asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea, diabetes, em particular diabetes tipo I, peritonite, psoríase, carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, cânceres, cânceres metastáticos, câncer de pulmão, doença degenerativa, doença infecciosa, em particular sepse, doenças autoimunes ou para uso em vacinação.

[00173] Em uma modalidade, a invenção refere-se a um método de tratamento de uma patologia selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, incluindo, entre outras doenças inflamatórias agudas e doenças inflamatórias crônicas, doença inflamatória intestinal, doença de Crohn, asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea, diabetes, em particular diabetes tipo I,

peritonite, psoríase, carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, cânceres, cânceres metastáticos, câncer de pulmão, doença degenerativa, doença infecciosa, em particular sepse, doenças autoimunes de um indivíduo com necessidade do mesmo, o qual compreende administrar simultânea, separada ou sequencialmente ao dito indivíduo uma quantidade eficaz de um produto combinado como definido acima.

[00174] Em uma modalidade, a invenção refere-se ao uso de um produto combinado, como definido acima, na produção de um medicamento para o tratamento de uma patologia selecionada a partir do grupo de doenças inflamatórias, incluindo, entre outras doenças inflamatórias agudas e doenças inflamatórias crônicas, doença inflamatória intestinal, doença de Crohn, asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, colite, em particular colite ulcerativa ou colite espontânea, diabetes, em particular diabetes tipo I, peritonite, psoríase, carcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, cânceres, cânceres metastáticos, câncer de pulmão, doença degenerativa, doença infecciosa, em particular sepse, doenças autoimunes.

[00175] A invenção também se refere a um método para selecionar um composto anti-CMKLR1, o dito método compreendendo as seguintes etapas:

a) prover um composto selecionado a partir do grupo de um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou um anticorpo quimérico ou humanizado o dito composto compreendendo:

- um domínio variável de cadeia pesada de anticorpo compreendendo as três CDRs VHCDR1, VHCDR2 e VHCDR3, em que:

- VHCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 4 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VHCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 6 ou uma sequência mutada da

mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VHCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 8 ou SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s) desde que os resíduos de aminoácidos na posição 1 e 2 de SEQ ID No: 8 sejam respectivamente L e I; e

- um domínio variável de cadeia leve de anticorpo compreendendo as três CDRs VLCDR1, VLCDR2 e VLCDR3, em que:

- VLCDR1 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 12 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VLCDR2 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 14 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s); e

- VLCDR3 compreende ou consiste na sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID No: 15 ou uma sequência mutada da mesma em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s);

b) testar a capacidade do composto de ser um agonista de CMKLR1 do tipo RvE1, em particular testar a capacidade do composto para favorecer a resolução da inflamação; em particular em células mieloides; e opcionalmente

c) testar a capacidade de ligação do composto por análise BLITZ ou Biossensor a um epítipo localizado dentro da terceira alça E3 de CMKLR1, em particular a capacidade de ligação do composto a um polipeptídeo compreendendo os resíduos de aminoácidos de SEQ ID No: 2 ou SEQ ID No: 152; e opcionalmente

d) testar a capacidade do composto de não competir com a ligação de chemerina a CMKLR1;

e) e, quando a capacidade de ligação do composto testada na

etapa c) for pelo menos 10E-8 KD,

i) testar a capacidade do composto de induzir a fosforilação de Akt e/ou a fosforilação de Erk após a ligação do composto a CMKLR1, em particular a fosforilação de Akt e a fosforilação of Erk;

ii) testar a capacidade do composto de aumentar a secreção de citocinas anti-inflamatórias, em particular IL10, mais particularmente IL10 e CCL17; e/ou a capacidade do composto de inibir ou reduzir a secreção de citocinas pró-inflamatórias, em particular IL12; em particular em células mieloides expressando CMKLR1; e/ou

iii) testar a capacidade do composto de aumentar a polarização de macrófagos para favorecer macrófagos anti-inflamatórios do tipo M2; em particular a capacidade do composto de aumentar a secreção do marcador fenotípico CD200R; e/ou

iv) testar a capacidade do composto de inibir a ativação e/ou proliferação de células dendríticas.

[00176] As capacidades do composto podem ser testadas de acordo com os exemplos revelados nos exemplos da presente invenção.

[00177] A invenção também se refere a um polinucleotídeo que codifica um composto anti-CMKLR1 como aqui definido. Para isso, a invenção também se refere a uma molécula de ácido nucleico, ou um grupo de moléculas de ácido nucleico, mais particularmente uma ou mais moléculas de ácido nucleico isolado e/ou uma ou mais moléculas de ácido nucleico recombinante, que codifica(m) qualquer composto anti-CMKLR1 de acordo com a presente invenção, mais particularmente que codifica(m) um domínio variável de cadeia pesada compreendendo ou consistindo nos resíduos de aminoácidos de sequências estabelecidas na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No: 22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 24; SEQ ID No: 25; SEQ ID No: 26; SEQ ID No: 27; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 31; SEQ ID No: 32; SEQ ID No: 33; SEQ ID No: 34; SEQ ID

No: 35; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; SEQ ID No: 39; SEQ ID No: 40; SEQ ID No: 41 ou SEQ ID No: 42 e/ou um domínio variável de cadeia leve compreendendo ou consistindo nos resíduos de aminoácidos de sequências estabelecidas na SEQ ID No: SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61. A(s) molécula(s) de ácido nucleico pode(m) compreender ainda sequências de regulação, como, entre outros, intensificadores, silenciadores, promotores, em particular promotores da expressão, peptídeo sinal, para transcrição e expressão do domínio variável de cadeia pesada e/ou o domínio variável de cadeia leve codificados.

[00178] A invenção também se refere a um vetor que compreende o polinucleotídeo como aqui descrito, ou que compreende a(s) molécula(s) de ácido nucleico como aqui descritas. Neste relatório descritivo, um vetor é uma molécula de ácido nucleico utilizada como veículo para transferir material genético para uma célula e, em uma modalidade preferida, permite a expressão de um polinucleotídeo inserido dentro do vetor. O termo vetor abrange plasmídeos, vírus, cosmídeos e cromossomos artificiais. Um vetor geralmente compreende uma origem de replicação, um sítio de multiclonagem e um marcador selecionável. O próprio vetor é geralmente uma sequência de nucleotídeos, comumente uma sequência de DNA, que compreende um inserto (transgene) e uma sequência maior que serve como o “esqueleto” do vetor. Os vetores modernos podem abranger características adicionais além do transgene inserido e um esqueleto: promotor, marcador genético, resistência a antibióticos, gene repórter, sequência de direcionamento, etiqueta (*tag*) para purificação de proteína. Os vetores denominados vetores de expressão (construções para expressão) destinam-se especificamente à expressão do

transgene na célula alvo e, em geral, têm sequências de controle.

[00179] Em outro aspecto, a invenção refere-se a uma célula, uma célula isolada, uma célula hospedeira, uma célula hospedeira isolada ou uma linhagem celular compreendendo um vetor como definido acima. Neste relatório descritivo, esses termos relacionados a células destinam-se a incluir qualquer célula individual ou cultura de células que pode ser ou foi receptora de vetores, moléculas de ácido nucleico exógeno e polinucleotídeos que codificam a construção do anticorpo da presente invenção; e/ou receptores da própria construção do anticorpo. A introdução do respectivo material na célula pode ser realizada por meio de transformação, transfecção e similares. Esses termos destinam-se também a incluir a progênie ou progênie potencial de uma única célula. As células hospedeiras adequadas incluem células procarióticas ou eucarióticas, e também incluem, entre outras, bactérias, células de leveduras, células de fungos, células de plantas e células de animais, tais como células de inseto e células de mamíferos, p. ex., murinas, de rato, coelho, macaco ou humanas.

[00180] As Figuras e Exemplos a seguir são apresentadas para fornecer aos técnicos no assunto uma exposição e descrição completa do modo como produzir e usar a presente invenção, e não se destinam a limitar o âmbito daquilo que os inventores consideram como a sua invenção nem se destinam a declarar que os experimentos abaixo são todos e os únicos experimentos realizados. Embora a presente invenção tenha sido descrita com referência às modalidades específicas da mesma, deve ser entendido pelos técnicos no assunto que várias alterações podem ser efetuadas e equivalentes podem ser substituídos sem se afastar do verdadeiro espírito e âmbito da invenção. Além disso, podem ser feitas muitas modificações para adaptar uma situação em particular, material, composição de matéria, processo, etapa ou etapas de processos ao objetivo, espírito e âmbito da presente invenção. Todas tais modificações destinam-se a ser abrangidas pelo âmbito das reivindicações

anexadas ao presente.

Legendas de figuras

[00181] Figura 1. Efeito das variantes anti-CMKLR1, anticorpos quiméricos 1G1, 2G1, 3G1 e 4G1 sobre a maturação e diferenciação de DCs. Células dendríticas de camundongos foram incubadas durante a fase de maturação (24h ou 48h) após uma fase de diferenciação com o excipiente ou RvE1 ou variantes do anticorpo anti-CMKLR1 (mutações nas posições 1 e 2 da SEQ ID No. 8, correspondendo à VH-CDR3: 1G1 (LL), 2G1 (LI), 3G1 (IL) ou 4G1 (II) ou isotipos controle (hIgG1 ou mIgG)). As células foram então coradas para análise de FACS com anticorpos marcadores das células: **A.** CD80-PE; **B.** CD86-FITC; **C.** CD103-PerCPCy5.5; **D.** I/Ab-APC. A média da Fluorescência foi determinada em cada condição. **E** e **F** representam a viabilidade das células medida por FACS usando o kit LIVE/DEAD® da Life Technologies em cada condição após 24 ou 48 horas de maturação respectivamente.

[00182] Figura 2. Efeito de um anticorpo anti-CMKLR1 sobre um modelo de colite inflamatória aguda em camundongos, induzida por DSS. Camundongos foram injetados após 6 dias de indução por DSS com isotipo controle hIgG1 (10 µg por camundongo) (x), RvE1 (1 µg por camundongo) diariamente (●), ou com anticorpo 2G1 (10 µg por camundongo) três vezes () por 5 dias. Camundongos do tipo selvagem, não tratados, são representados por ▼. **A.** Perda de peso dos animais. **B.** Escala de fezes dos animais **C.** Comprimento do cólon. **D.** Índice de resolução.

[00183] Figura 3. Efeito de um anticorpo anti-CMKLR1 sobre um modelo de colite inflamatório agudo em camundongos, induzida por TNBS. Os camundongos receberam 200 µL do agente haptênico TNBS a 5% em etanol 50% no dia 0 e então foram injetados com isotipo controle hIgG1 (10 µg por camundongo) (x), RvE1 (1 µg por camundongo) diariamente (●), ou com o anticorpo 2G1 (10 µg por camundongo) três vezes () por 5 dias, ou

não tratados (animais do tipo selvagem) (\blacktriangle). Os camundongos foram sacrificados e a extensão do cólon foi medida em cada condição.

[00184] Figura 4. Efeito de um anticorpo anti-CMKLR1 sobre um modelo de colite inflamatória crônica em camundongos IL10 KO. Camundongos KO para IL10 desenvolveram inflamatória colite espontânea. Eles foram tratados com um anticorpo anti-CMKLR1 (2G1) () ou isotipo controle (hIgG1) (x) por via intraperitoneal (25 μ g/injeção, 3 vezes por semana). **A.** Perda de peso dos animais durante e depois do tratamento. **B.** Escala de fezes dos animais.

[00185] Figura 5. Efeito de um anticorpo anti-CMKLR1 sobre um modelo de diabetes tipo 1 sem obesidade em camundongos. Os camundongos desenvolvem diabetes espontânea. Quando a glicemia estava entre 180 e 234 mg/dL, eles foram tratados com anticorpo anti-CMKLR1 (em A e B, ■ em C) ou anticorpo do isotipo controle (x em A e B; em C) por via intraperitoneal a 20 μ g/injeção três vezes por semana por 2 semanas. **A.** Porcentagem de sobrevivência, **B.** Representação individual da concentração de glicose no sangue em mg/dL. **C.** Representação agrupada da concentração de glicose no sangue em mg/dL.

[00186] Figura 6. Efeito de Resolvina E1 sobre uma doença autoimune tal como no modelo de psoríase em camundongos. Camundongos tratados com aldara por 6 dias consecutivos foram injetados via intraperitoneal com: RvE1 (1 μ g) (\bullet) e PBS, diariamente, e com o anticorpo do isotipo controle (10 μ g) (x) no dia 0, 2 e 4. **A.** Espessura da orelha e **B.** espessura da pele foram medidas diariamente até a recuperação.

[00187] Figura 7. Efeito de um anticorpo anti-CMKLR1 sobre um modelo de peritonite em camundongos. A injeção preventiva anti-CMKLR1 foi realizada antes da injeção de Zymosan A (1 mg por camundongo em 1 mL): RvE1 (1 μ g por camundongo) (\bullet), anticorpo 2G1 (10 μ g por camundongo) () ou anticorpo do isotipo controle (x). **A.** Número de PMN

durante as primeiras 50 horas depois da injeção de Zymosan A. **B.** Número de macrófagos durante as primeiras 50 horas depois da injeção de Zymosan A. **C.** Índice de resolução.

[00188] Figura 8. Efeito de um anticorpo anti-CMKLR1 sobre um modelo de tumor de mama 4T1. Camundongos foram inoculados com células 4T1 (0,25 milhões) na glândula mamária. Em seguida, o anticorpo anti-CMKLR1 (2G1) (A. B. ●) ou um anticorpo anti-41BB (3H3) (●) ou os dois anticorpos (▲) foram injetados duas vezes no dia 4 e dia 7 (10 µg/injeção) ou um anticorpo controle (clone 3G8 do anticorpo de isotipo IgG1) (x A. e B.) foi injetado três vezes por semana durante três semanas. A. A área tumoral foi medida 8 dias após a injeção do tumor e, a seguir, a cada 2 dias. B. A metástase do tumor no pulmão foi medida por imagem de bioluminescência (BLI) em animais tratados com anticorpo do isotipo controle e anti-CMKLR1 (n=4).

[00189] Figura 9. Efeito de um anticorpo anti-CMKLR1 sobre 2 modelos diferentes de carcinoma de cólon em camundongos. Dois modelos de camundongos foram estudados, e os animais receberam o anticorpo de isotipo controle (3G8) (x) ou anti-CMKLR1 (2G1) () a 20 µg/injeção via intraperitoneal por 3 semanas. **A-C.** Resultados no modelo CT26 de carcinoma de cólon que comparou tratamento isolado com p84 (A) e 2G1 (B) e terapia combinada com os dois anticorpos (C). **D:** Resultados no modelo MC38 de carcinoma de cólon.

[00190] Figura 10. Expressão de CMKLR1 em biópsias de pacientes com colite ulcerativa (UC) ou doença de Crohn antes e depois de tratamento anti-TNFα. x representa controles; representa a expressão de CMKLR1 em paciente que responde ao tratamento com corticosteroides e/ou tratamento de imunossupressão antes do tratamento com Infliximabe; ■ representa a expressão de CMKLR1 em paciente que não responde ao tratamento com corticosteroides e/ou tratamento de imunossupressão antes do tratamento com

Infliximabe; Δ representa a expressão de CMKLR1 em paciente que responde ao tratamento com corticosteroides e/ou tratamento de imunossupressão depois do tratamento com Infliximabe; \blacktriangle representa a expressão de CMKLR1 em paciente que não responde ao tratamento com corticosteroides e/ou tratamento de imunossupressão depois do tratamento com Infliximabe.

A. Expressão de transcritos de CMKLR1 em pacientes com colite ulcerativa antes e depois do tratamento com Infliximabe. **B.** Expressão de transcritos de CMKLR1 em pacientes com doença de Crohn antes e depois do tratamento com Infliximabe em biópsias de cólon inflamado.

[00191] Figura 11. Expressão de CMKLR1 em biópsias de pacientes com colite ulcerativa antes e depois do tratamento com anti- $\alpha 4\beta 7$ (VDZ). **A.** Representa a expressão do transcrito de CMKLR1 (CMKLR1) em pacientes com colite ulcerativa antes e depois do tratamento com Vedolizumabe em biópsias de cólon inflamado. R corresponde a paciente responsivo ao tratamento com VDZ, NR corresponde a paciente não responsivo ao tratamento com VDZ.

[00192] Figura 12. Análise de ligação do anticorpo anti-CMKLR1 em um peptídeo CMKLR1 por ELISA. A ligação do anticorpo 2G1 () na alça EL3 de CMKLR1 (SEQ ID No: 18) foi comparada à do anticorpo do isotipo controle (3G8) (x) medindo a OD a 450 nm por ELISA.

[00193] Figura 13. Estudo da expressão de CMKLR1 em diferentes linhagens celulares por FACS e *Western blotting*. **A.** A expressão proteica na superfície celular de CMKLR1 foi determinada utilizando o anticorpo 2G1 em concentração diferente (ng/mL) em duas linhagens de células T humanas diferentes Thp1 e U937. **B.** A expressão da proteína CMKLR1 foi testada por *western blotting* em linhagens de células T (Thp1 e U937), a linhagem celular de fibroblastos MRC5, linhagens NKL de células de NK e células CHO negativas e transduzidas para CMKLR1.

[00194] Figura 14. Expressão de CMKLR1 em células mieloides de

camundongos por FACS. Após a diferenciação, as células da linhagem mieloide dos camundongos tiveram analisadas a sua expressão de CMKLR1 na superfície celular. **A.** Expressão em monócitos-macrófagos (M0). **B e C.** Expressão em macrófagos (mM1 e mM2). **D e E.** Expressão em células dendríticas (mDC e iDC).

[00195] Figura 15. Estudo da secreção de citocinas inflamatórias por macrófagos humanos durante a ativação de CMKLR1. Após a diferenciação de macrófagos humanos M1 ou M2, as células foram incubadas na presença de meio, anticorpos do isotipo controle e anti-CMKLR1 (H6 e BZ194), peptídeos C15, anticorpo anti-CMKLR1 2G1 ou RvE1. A secreção de IL10, CCL17 e IL12p40 foi avaliada por ELISA. A secreção de citocinas é medida no sobrenadante utilizando um kit de ELISA da BD. O sobrenadante foi diluído 1/10 para citocinas IL10, 1/50 para citocinas CCL17 e 1/100 para citocinas IL12p40. **A.** Secreção da citocinas IL10 por células M2. **B.** Secreção da citocinas CCL17 por células M2. **C.** representa a secreção da citocinas IL12 por células M1.

[00196] Figura 16. Estudo da secreção de citocinas inflamatórias por macrófagos humanos durante a ativação de CMKLR1. Após a diferenciação de monócitos humanos, as células foram incubadas na presença de diferentes isotipos controle (mlgG4; hlgG4 ou hlgG1 a 2 µg/mL); anticorpo C7 anti-CMKLR1 comercial (2 µg/mL); anticorpos 2G4 ou 2G1 (2 µg/mL) ou outros anticorpos anti-CMKLR1 comerciais (H6 (2 µg/mL), BZ332 (2 µg/mL) ou 84939 (2 µg/mL), peptídeos C15 (10 nM), ou RvE1 (10 ng/mL). **A.** Expressão do marcador CD200R medida por FACS. **B.** Secreção da citocina IL10 por células M2. **C.** Secreção da citocina CCL17 por células M2. **D.** representa a secreção da citocina IL12 por células M1. A secreção de IL10, CCL17 e IL12p40 foi avaliada por ELISA.

[00197] Figura 17. Estudo dos marcadores da ativação de células mieloides após ativação da via de CMKLR1. Células dendríticas incubadas

em excipiente, RvE1, 2G1 ou isotipo controle (hIgG1) foram então coradas para análise de FACS com anticorpos marcadores: **A.** CD80-PE. **B.** CD86-FITC. **C.** CD103-PerCPCy5.5. **D.** CD40-PeCy7. **E.** I/Ab-APC. A média da Fluorescência foi determinada em cada condição.

[00198] Figura 18. Estudo da ativação da via de CMKLR1: Fosforilação de Akt e Erk. Análise por *Western blotting* da via de ativação de ERK e AKT após 5, 10 e 30 minutos da incubação de células M1 de camundongos com 2G1 ou RvE1. A proteína Akt ou Erk Fosforilada foi avaliada utilizando um anticorpo contra P-Akt ou anticorpo contra P-Erk (p44/42). **A.** Ativação de Erk e Akt com RvE1. **B.** Ativação de Erk e Akt com 2G1.

[00199] Figura 19. Expressão de CMKLR1 em monócitos humanos e células da medula óssea de camundongos estimuladas com estímulos pró-inflamatórios. Após 16 ou 48 horas de estimulação das células com LPS, TNFa ou IL6, a expressão do CMKLR1 (ChemR23) foi medida por FACS. **A.** Resultados em monócitos humanos do sangue, **B.** e **C.** Resultados em células mieloides e neutrófilos da medula óssea de camundongos.

[00200] Figura 20. Estudo de competição sobre a interação chemerina-CMLKR1 com anticorpos anti-CMKLR1.

A. Foi testada a inibição do cAMP por Chemerina de dois doadores da DiscoverX (●) ou da R&D System (▲) ou combinada com anticorpo anti-CMKLR1 (2G1) isoladamente (◇) ou combinada com chemerina da DiscoverX ().

B. Ativação de beta-arrestina na presença de anticorpo anti-CMKLR1 em concentrações diferentes de 1 µM a 1 nM e Chemerina 2 nM (◇) ou 6 nM (●).

[00201] Figura 21. Efeito de um anticorpo anti-CMKLR1 no modelo de colite crônica por transferência de células CD45Rb^{high} em camundongos. A variação no peso de animais tratados foi seguida por até sessenta dias. Os animais foram tratados com isotipo controle hIgG1 (x) ou anticorpo anti-

CMKLR1 (■).

[00202] Figura 22. Efeito de um anticorpo anti-CMKLR1 sobre um modelo de Hepatocarcinoma em camundongos (modelo HCC). Efeito antitumoral da administração de anticorpo anti-CMKLR1 (2G1, 0,8 mg/kg) i.p. três vezes por semana durante 2 semanas em combinação (▲) ou não (●) com duas injeções no Dia 4 e 8 de mAb anti-PD1 (clone *RMP1-14*, 8 mg/kg) ou com injeções (duas vezes por semana) de anticorpo anti-PD-1 sozinho (Δ). Os camundongos foram tratados durante 2 semanas em um modelo ortotrópico de hepatoma murinho ($2,5 \times 10^6$ células Hepa 1.6 injetadas através da veia porta no Dia 0). O anticorpo do isotipo controle foi usado a 0,8 mg/kg, três vezes por semana, durante 2 semanas. A resposta dos camundongos foi considerada parcial (RP), quando os camundongos sobrevivem poucos dias até 1 mês após a interrupção do tratamento, ou completa (RC), quando os camundongos sobrevivem mais de 1 mês, ou curados quando sobrevivem um período três vezes maior do que o necessário para a morte de todos os camundongos controles.

Exemplos

Produção e seleção de anticorpo anti-CMKLR1

[00203] Diversos anticorpos com sequências diferentes de CDR dentro de seus domínios variáveis de cadeia pesada e leve foram sintetizados. Os anticorpos distintos foram testados quanto à sua capacidade para induzir a maturação e diferenciação de células dendríticas no sentido de uma via pró-inflamatória ou uma via anti-inflamatória. Considerando os resultados divergentes, os inventores compararam as sequências de aminoácidos obtidas dos domínios variáveis da cadeia pesada e leve e determinaram que a diferença de aminoácidos na HCDR3 pode ser substancial para os ditos resultados experimentais. Eles selecionaram o anticorpo 2G1 (SEQ ID No: 10 e SEQ ID No: 17) para avaliar suas propriedades na resolução do estado inflamatório de ao menos influenciar o dito estado na fase de resolução.

[00204] Como mostrado na **Figura 1**; os anticorpos 2G1 e 1G1 (outro anticorpo sintetizado) foram capazes de inibir a ativação e/ou maturação de DCs de maneira mais forte do que outras células de anticorpos sintetizados (3G1 e 4G1) no sentido de uma via pró-inflamatória, pois o nível de detecção de DCs expressando CD103 e IAb tratados com 2G1 foi menor do que de células DCs tratadas com o anticorpo C7 (o método usado nesse ensaio é descrito no item 10.2 dos exemplos). Como mostrado na Figura 1E e 1F, a viabilidade de células é aumentada após o tratamento com os anticorpos 1G1 ou 2G1 em comparação a células tratadas com outros anticorpos, incluindo C7 ou Resolvina E1.

[00205] O 2G1 foi humanizado usando o método de enxerto de CDRs *in silico*, um método de humanização bem conhecido na técnica. As sequências humanizadas resultantes das regiões CDR e FR, bem como da cadeia variável pesada e leve são descritas nas tabelas seguintes.

SEQ ID No		Sequências
4	VHCDR1 WT	GFTFSSYGMS
6	VHCDR2 WT	TINRYGGSTYYPD SVKG
144	VHCDR3 WT	LIYYGNEGDS
62	VHCDR1	GFTFSSYAMS
63	VHCDR1	GYTFTSYGMS
64	VHCDR1	GYTFTSYAMS
65	VHCDR1	GYTFTSYAMN
66	VHCDR2	TINRYGGSTYYAASVKG
67	VHCDR2	TISRSGGSTYYAASVKG
68	VHCDR2	TINRYGGSTYYPD SFKG
69	VHCDR2	TINRYGGSTYYAQKFQG
70	VHCDR2	IINRNNGGSTYYAQKFQG
71	VHCDR2	TINRYGGSPYYAQGFTG
72	VHCDR2	TINRYGGNPYYAQGFTG
145	VHCDR3	LIYYGNEGES
146	VHCDR3	LIYYGNEGDT
147	VHCDR3	LIYYGNEGET

Tabela 1: Sequências das CDRs do tipo selvagem (SEQ ID No: 4, SEQ ID No: 6 e SEQ ID No: 144) e humanizadas (outras SEQ ID) do domínio variável de cadeia pesada de um composto anti-CMKLR1.

SEQ ID No		Sequências
12	VLCDR1 WT	SASSSVSFMH
14	VLCDR2 WT	DTTKLTS
15	VLCDR3 WT	QQWNSKPPLT
76	VLCDR1	RASQSVSFMH
77	VLCDR1	RASQSVSFLH
78	VLCDR1	RASQGISFLA
79	VLCDR1	RASQSVSFLA
80	VLCDR1	RASQGISFLH
81	VLCDR2	DATKLTS
82	VLCDR2	DASKLTS
83	VLCDR2	DASKLES
84	VLCDR2	DATKSTS
85	VLCDR2	DASKSFS
86	VLCDR2	DATKRTT
87	VLCDR2	DASKSTS
88	VLCDR2	DASKRTT
89	VLCDR3	QQWQSKPPLT

Tabela 2: Sequências das CDRs do tipo selvagem (SEQ ID No: 12; SEQ ID No: 14 e SEQ ID No: 15) e humanizadas (de SEQ ID No: 76 a SEQ ID No: 89) do domínio variável de cadeia leve de um composto anti-CMKLR1.

SEQ ID No		SEQUÊNCIAS
90	HFR1 WT	EVQLVASGGGLVQPGGSLKLSAAS
91	HFR1 /1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAAAS
92	HFR1 /2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS
93	HFR1 /3	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKAS
94	HFR2 WT	WVRQTPDRRLVLA
95	HFR2 /1	WVRQAPGKGLELVA
96	HFR2 /2	WVRQAPGQGLELVA
97	HFR2 /3	WVRQAPGQGLELVA
98	HFR2 /4	WVRQAPGKGLELVS
99	HFR2 /5	WVRQAPGQGLELVG
100	HFR2 /6	WVRQAPGQGLELMG
101	HFR3 WT	RFTISRDNKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCPR
102	HFR3 /1	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCPK
103	HFR3 /2	RVITITRDNSTSTLYMELSSLRSEDTAVYYCPR
104	HFR3 /3	RFVISRDNSVSTLYLQISSLKAEDTAVYYCPR
105	HFR3 /4	RVITITRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCPR
106	HFR3 /5	RFVISRDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCPR
107	HFR4 WT	WGQGTLTVSS
108	HFR4	WGQGTLTVSS
19	HFR1 con.	XVQLVXSGXGXXXPGXSSXSCXAS
125	HFR2 con.	WVRXTPXXXLVA
126	HFR3 con.	RXXIXRDNXXXLYXXXSLXXEDTAXYYCPR
127	HFR4 con.	WGQGTXXTVSS

Tabela 3: Sequências das FRs do tipo selvagem, humanizadas e consenso do domínio variável de cadeia pesada de um composto anti-CMKLR1.

SEQ ID No		Sequências
109	<i>LFR1 WT /1</i>	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC
110	<i>LFR1 /1</i>	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTTTC
111	<i>LFR1 /2</i>	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC
112	<i>LFR1 /3</i>	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
113	<i>LFR2 WT /1</i>	WYQQKSGTSPKRWIY
114	<i>LFR2 /1</i>	WYQQKPGKAPKRWIY
115	<i>LFR2 /2</i>	WYQQKPDQSPKRWIY
116	<i>LFR2 /3</i>	WYQQKPGQAPRRWIY
117	<i>LFR2 /4</i>	WYQQKPGKAPKRLIY
118	<i>LFR3 WT /1</i>	GVPARFSGSGSGTFYSLTISSMEAEDAATYYC
119	<i>LFR3 /1</i>	GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC
120	<i>LFR3 /2</i>	GVPSRFSGSGSGTDYTLTINSLEAEDAATYYC
121	<i>LFR3 /3</i>	GIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYYC
122	<i>LFR3 /4</i>	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC
132	<i>LFR3 /5</i>	GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYC
123	<i>LFR4 WT /1</i>	FGPGTKLELK
124	<i>LFR4 /1</i>	FGGGTKVEIK
128	<i>LFR1 consensus /1</i>	XIXLTQSPXXXSXXXXXXXXXTXTC
129	<i>LFR2 consensus /1</i>	WYQQKXXXXPXRWIY
130	<i>LFR3 consensus /1</i>	GXPXRFSGSGSGTXYXLTIXXXXEDXAXYYC
131	<i>LFR4 consensus /1</i>	FGXGTKXEXKR

Tabela 4: Sequências das FRs do tipo selvagem, humanizadas e consenso do domínio variável de cadeia leve de um composto anti-CMKLR1.

SEQ ID No		Sequências
20	23_VHvA	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYGMWVRQAPGKGLVATINRYGGSTYYPDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCPRLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
21	23_VHvB	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYGMWVRQAPGKGLVATINRYGGSTYYAAS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCPKLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
22	23_VHvC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKGLVATINRYGGSTYYAAS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCPKLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
23	23_VHvD	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKGLVSTISRGSGSTYYAASV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCPKLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
24	23_VHvE	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKGLVSTISGSGSGSTYYAASV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
25	23_VHvF	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGSGSTYYAAS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
26	23_VHvG	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGSGSTYYAAS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
27	23_VHvH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGSGSTYYAAS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLIYYGNEGDTWGQGLTVTVSS
28	46_VHvA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFTSSYGMWVRQAPGQGLELVATINRYGGSTYYPD SFKGRVTITRDNSTSTLYMELSLRSED TAVYYCPRLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
29	46_VHvB	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFTSSYGMWVRQAPGQGLELVGINRYGGSTYYAQ KFQGRVTITRDNSTSTLYMELSLRSED TAVYYCPRLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
30	46_VHvC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTTSYGMWVRQAPGQGLELMGIINRNGGSTYYAQ KFQGRVTITRDNSTSTVYMESSLRSED TAVYYCPRLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
31	46_VHvD	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTTSYGMWVRQAPGQGLELMGIINRNGGSTYYAQ KFQGRVTITRDNSTSTVYMESSLRSED TAVYYCARLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
32	46_VHvE	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTTSYGMWVRQAPGQGLEWMGIINPNGGSTYYA QKFQGRVTITRDNSTSTVYMESSLRSED TAVYYCARLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
33	46_VHvF	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPNGGSTSYA QKFQGRVTITRDNSTSTVYMESSLRSED TAVYYCARLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
34	46_VHvG	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPNGGSTSYA QKFQGRVTITRDNSTSTVYMESSLRSED TAVYYCARLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
35	46_VHvH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPNGGSTSYA QKFQGRVTITRDNSTSTVYMESSLRSED TAVYYCARLIYYGNEGDTWGQGLTVTVSS
36	41_VHvA	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGFTSSYGMWVRQAPGQGLELVATINRYGGSTYYPDS FKGRFVISRDNSVSTLYLQISSLKAEDTAVYYCPRLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
37	41_VHvB	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGFTSSYGMWVRQAPGQGLELVGINRYGGSPYYAQ GFTGRFVISRDNSVSTLYLQISSLKAEDTAVYYCPRLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
38	41_VHvC	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYFTTSYAMSWVRQAPGQGLELVGINRYGGNPYYAQ GFTGRFVISRDNSVSTLYLQISSLKAEDTAVYYCPRLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
39	41_VHvD	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYFTTSYAMN WVRQAPGQGLELMGTINRYGGNPYYA QGFTGRFVISRDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCPRLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
40	41_VHvE	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYFTTSYAMN WVRQAPGQGLELMGTINTYTGNPYYAQ GFTGRFVISRDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
41	41_VHvF	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYFTTSYAMN WVRQAPGQGLEWMGWINTYTGNPY AQGFTGRFVISLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARLIYYGNEGDSWGQGLTVTVSS
42	41_VHvG	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYFTTSYAMN WVRQAPGQGLEWMGWINTYTGNPY AQGFTGRFVISLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARLIYYGNEGDTWGQGLTVTVSS

Tabela 5: Sequências da cadeia pesada de um composto anti-CMKLR1

SEQ ID No		Sequências
43	13VLvA	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSVSFMHWYQQKPGKAPKRWIYDITKLTSGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLPEDFATYYCQQWNSKPPLTFGGGTKEIK
44	13VLvB	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVSFMHWYQQKPGKAPKRWIYDATKLTSGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLPEDFATYYCQQWNSKPPLTFGGGTKEIK
45	13VLvC	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVSFLHWYQQKPGKAPKRWIYDATKLTSGVPSRFSGS GSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQWNSKPPLTFGGGTKEIK
46	13VLvD	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVSFLHWYQQKPGKAPKRWIYDATKLTSGVPSRFSGS GSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQWQSKPPLTFGGGTKEIK
47	13VLvE	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVSFLHWYQQKPGKAPKRWIYDASKLTSGVPSRFSGS GSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQWQSKPPLTFGGGTKEIK
48	13VLvF	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISFLAWYQQKPGKAPKRLIYDASKLESVPSRFSGSGS GTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQWQSKPPLTFGGGTKEIK
49	13VLvG	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSFLAWYQQKPGKAPKRLIYDASSLESVPSRFSGSGS GTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQFQSYPLTFGGGTKEIK
50	21_VLvA	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSVSFMHWYQQKPDQSPKRWIYDITKLTSGVPSRFSGS GSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQQWNSKPPLTFGGGTKEIK
51	21_VLvB	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSVSFMHWYQQKPDQSPKRWIYDATKSTSGVPSRFSGS GSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQQWNSKPPLTFGGGTKEIK
52	21_VLvC	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSVSFLHWYQQKPDQSPKRWIYDATKSTSGVPSRFSGS GSGTDFLTITINSLEAEDAATYYCQQWNSKPPLTFGGGTKEIK
53	21_VLvD	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSVSFLHWYQQKPDQSPKRWIYDATKSTSGVPSRFSGS GSGTDFLTITINSLEAEDAATYYCQQWQSKPPLTFGGGTKEIK
54	21_VLvE	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSVSFLHWYQQKPDQSPKRLIYDASKSTSGVPSRFSGSGS GTDFTLTITINSLEAEDAATYYCQQWQSKPPLTFGGGTKEIK
55	21_VLvF	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSVSFLHWYQQKPDQSPKLLIYASQSFSGVPSRFSGSGS GTDFTLTITINSLEAEDAATYYCHQSQSLPPLTFGGGTKEIK
56	11_VLvA	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASSVSFMHWYQQKPGQAPRRWIYDITKLTSGIPARFSGSG SGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQWNSKPPLTFGGGTKEIK
57	11_VLvB	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSFMHWYQQKPGQAPRRWIYDATKLTGIPARFSGS GSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQWNSKPPLTFGGGTKEIK
58	11_VLvC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSFLHWYQQKPGQAPRRWIYDATKRTTGIPARFSGSG SGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQQWNSKPPLTFGGGTKEIK
59	11_VLvD	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSFLHWYQQKPGQAPRRWIYDATKRTTGIPARFSGSG SGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQQWQSKPPLTFGGGTKEIK
60	11_VLvE	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSFLAWYQQKPGQAPRRLIYDASKRTTGIPARFSGSGS GTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQWQSKPPLTFGGGTKEIK
61	11_VLvF	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCHQRQNWPPPLTFGGGTKEIK

Tabela 6: Sequências da cadeia leve de um composto anti-CMKLR1

Exemplos da eficácia terapêutica do tratamento com anticorpo anti-CMKLR1 em modelos pré-clínicos de doenças autoimunes e inflamatórias

Exemplo 1. Indução de colite por DSS

[00206] Induziu-se colite em camundongos C57Bl/6 machos de 8-10 semanas- de idade pela adição de DSS 2% (p/v) à água estéril de consumo *ad libitum* por 6 dias. Os tratamentos foram injetados via intraperitoneal: Isotipo controle hIgG1 (10 µg por camundongo), RvE1 (1 µg por camundongo) diariamente, ou anticorpo 2G1 (10 µg por camundongo) três vezes por 5 dias. O acompanhamento da colite, consistindo no peso corporal e parâmetros da escala de fezes (0: fezes normais; 4: sangue nas fezes), foi realizado diariamente. Quando os camundongos foram sacrificados, mediu-se a

extensão do cólon que representava a gravidade da patologia. O índice de resolução foi determinado nas diferentes condições descritas em Bannenberg *et al.*, 2005.

[00207] Resultados: O modelo animal com DSS apresentado na **Figura 2** é um modelo de inflamação aguda. A Figura 1 mostra um estado global melhor dos animais tratados com o anticorpo anti-CMKLR1 do que os estados de animais que receberam o anticorpo controle ou a resolvina RvE1. Os camundongos tratados com anti-CMKLR1 sofreram uma perda de peso significativamente menor (**Figura 2A**) e a escala de fezes (**Figura 2B**) foi significativamente melhor. Em relação à extensão do cólon e índice de resolução (**Figura 2C e 2D**), os animais que receberam o anti-CMKLR1 ou RvE1 apresentaram resultados semelhantes.

Exemplo 2. Indução de colite por TNBS

[00208] Induziu-se colite em camundongos C57Bl/6 machos de 8-10 semana- de vida por injeção intra-retal de 200 µL do agente haptênico TNBS a 5% em etanol 50% no Dia 0. Os tratamentos foram injetados via intraperitoneal; RvE1 (1 µg por camundongo) diariamente por três dias, ou anticorpo 2G1 (10 µg por camundongo) duas vezes por 3 dias. O acompanhamento da colite, consistindo no peso corporal e parâmetros da escala de fezes (0: fezes normais; 4: sangue nas fezes), foi realizado diariamente (dados não representados). Quando os camundongos foram sacrificados, mediu-se a extensão do cólon que representava a gravidade da patologia.

[00209] Resultados: A colite induzida por TNBS é outro modelo de inflamação aguda. A **Figura 3** mostra que animais tratados com anti-CMKLR1 ou RvE1 têm uma extensão do cólon que é igual à de um animal normal (tipo selvagem). No entanto, aqueles tratados com o isotipo controle apresentaram uma extensão mais curta de cólon. Esses resultados confirmaram o potencial terapêutico de um anticorpo anti-CMKLR1 que atua

como RvE1 em modelos de inflamação aguda em camundongos.

Exemplo 3. Modelo IL10-KO – Modelo de colite espontânea

[00210] Camundongos IL-10KO desenvolvem colite espontânea a partir de 20 semanas de idade, principalmente devido à ausência da função de células T reguladoras através da secreção de IL-10 no intestino. Camundongos IL-10KO foram acompanhados até três vezes por semana desde a 18ª semana de vida quanto à sua perda de peso e consistência das fezes, as quais são características clínicas dessa patologia. O anticorpo anti-CMKLR1 (2G1) ou isotipo controle (hIgG1) foram injetados via intraperitoneal quando a perda de peso era superior a 5% e a escala de fezes era superior ou igual a 1 por 2 semanas (25 µg/injeção, 3 vezes por semana).

[00211] Resultados: Um modelo de inflamação crônica foi utilizado para estudar a eficácia do tratamento com anticorpo anti-CMKLR1. A **Figura 4** mostra a análise da porcentagem de perda de peso (**Figura 4A**) e a escala de fezes (**Figura 4B**) quando os animais foram tratados com isotipo controle ou anticorpo anti-CMKLR1. Os resultados mostram que os animais sofreram perda de peso menos quando tratados com o anticorpo anti-CMKLR1 e apresentaram uma escala de fezes melhor do que aqueles que receberam o isotipo controle. O anticorpo anti-CMKLR1 parece, portanto, apresentar um potencial terapêutico para doenças inflamatórias crônicas.

Exemplo 4. Modelo pré-clínico de diabetes Tipo 1: o modelo de camundongos NOD

[00212] Camundongos NOD fêmeas de 8 semanas foram obtidas do Laboratório Charles River. Esses camundongos desenvolvem diabetes tipo 1 espontâneo na idade entre 12 e 20 semanas. O início do diabetes pode ser medido pela glicemia elevada. Quando a glicemia estava entre 180 e 234 mg/dL, anti-CMKLR1 e isotipo controle foram fornecidos via intraperitoneal a 20 µg/injeção três vezes por semana durante 2 semanas. Os camundongos foram sacrificados quando a glicemia era superior a 600mg/dL,

correspondendo a diabetes irreversível.

[00213] Resultados: esse modelo de diabetes tipo 1 é também considerado um modelo de doença autoimune em camundongos. Os resultados apresentados na **Figura 5 A-C** mostram que animais tratados com um anticorpo anti-CMKLR1 apresentaram melhor porcentagem de sobrevivência e glicemia quase normal, conforme indicada pela medição da concentração de glicose no sangue. Essa recuperação parece ser estável ao longo do tempo e indica uma recuperação total potencial de animais que estavam anteriormente doentes. O anticorpo anti-CMKLR1 restaurou um estado de tolerância contra glicose.

Exemplo 5. Inflamação da pele semelhante à psoríase induzida por imiquimode

[00214] Aldara® creme, que é conhecido por induzir psoríase em camundongos foi usada em camundongos C57Bl/6 machos (8-10-semana de idade). Os camundongos receberam uma dose tópica diária de Aldara no dorso raspado e na orelha esquerda por 6 dias consecutivos. Os tratamentos foram injetados via intraperitoneal: RvE1 (1 µg por camundongo) e PBS diariamente. A espessura da orelha (**Figura 6A**) e do dorso (**Figura 6B**) foram medidas diariamente até a recuperação.

[00215] Resultados: Animais tratados com a resolvina RvE1 apresentaram uma espessura menor das orelhas e pele do que animais tratados com uma molécula controle. Esses resultados sugerem uma aplicação potencial para terapia com o anticorpo agonista anti-CMKLR1 no modelo de psoríase em camundongos, ilustrativo de uma doença autoimune.

Exemplo 6. Eficácia terapêutica do anticorpo anti-CMKLR1 em modelo pré-clínico de sepse: modelo de peritonite em camundongos

[00216] Peritonite comum é induzida por injeção intraperitoneal de Zymosan A® (1 mg por camundongo em 1 mL). A injeção preventiva de anti-CMKLR1 foi realizada 5 minutos antes da injeção de Zymosan A: RvE1 (1

µg por camundongo), anticorpo 2G1 (10 µg por camundongo). Neutrófilos polimorfos nucleares (PMN) peritoneais murinos (PMN) e macrófagos foram coletados em 2-4-8-16-24 e 48h após a injeção de Zymosan A e contados por análise de citometria de fluxo para determinar o índice de resolução (Bannenberg *et al.*, 2005).

[00217] Resultados: Os resultados apresentados na **Figura 7** sobre os números de PMNs (**7A**) e Macrófagos (**7B**) e sobre o índice de resolução (**7C**) mostram que animais tratados com RvE1 ou um anticorpo anti-CMKLR1 apresentaram resultados idênticos e um número ligeiramente menor de PMNs e macrófagos junto com um índice de resolução melhora, em comparação ao isotipo controle. Na sepse, mesmo uma diferença ligeira pode ser de importância para terapia. Consequentemente, esses resultados são muito positivos para uma aplicação potencial de um anticorpo anti-CMKLR1 para sepse.

Exemplo 7. Eficácia terapêutica do tratamento com anticorpo anti-CMKLR1 em modelos pré-clínicos de cânceres:

Exemplo 7.1. Efeito de um anticorpo anti-CMKLR1 sobre o crescimento de um tumor primário e seu desenvolvimento de metástase pulmonar em um modelo de carcinoma mamário ortotópico

[00218] Camundongos foram anestesiados com 3% de isoflurano. Os camundongos tiveram o abdômen raspado e células 4T1 (0,25 milhões) foram injetadas na glândula mamária com uma seringa para insulina (30 Gauges) em 50 µL de PBS. O anticorpo anti-CMKLR1 (2G1) ou um anticorpo anti-41BB (3H3) ou os dois anticorpos foram injetados duas vezes no Dia 4 e Dia 7 (10 µg/injeção); um anticorpo controle foi injetado três vezes por semana durante três semanas via intraperitoneal em PBS (100 µg/injeção). Em um segundo estudo para medir a metástase pulmonar após o desenvolvimento de carcinoma mamário, animais foram tratados com anticorpo anti-CMKLR1 a 0,8 mg/kg ou anticorpo controle (100 µg/injeção) três vezes por semana

durante três semanas.

[00219] Resultados: Como mostrado na **Figura 8A**, animais tratados com um único composto (2G1 ou 3H3) não mostraram qualquer melhora no crescimento do tumor quando comparados aos animais que receberam o anticorpo do isotipo controle. No entanto, os animais tratados com a combinação de anticorpo anti-CMKLR1 e anticorpo anti-41BB mostraram redução significativa ($p < 0,01$) no crescimento do tumor no modelo de carcinoma mamário. Como esse modelo de carcinoma mamário é um modelo muito agressivo, os resultados são considerados positivos. Como mostrado na **Figura 8B**, que ilustra os efeitos de um composto anti-CMKLR1 sobre a metástase para o pulmão por imagem de bioluminescência, pode-se ver que o tratamento com anti-CMKLR1 reduz a metástase pulmonar em comparação a animais tratados com o anticorpo controle. A análise da metástase para linfonodo mostra que nenhum animal tratado com o composto anti-CMKLR1 apresenta metástase enquanto dois animais no controle têm metástase (dados não mostrados). Esses resultados indicam que o anticorpo anti-CMLKR1 coma atividade agonista simulando RvE1 exerce um efeito antimetastático. Nesse modelo, o anticorpo da invenção não apresenta qualquer eficácia significativa sobre o desenvolvimento do tumor primário. No entanto, os resultados mostra uma melhora quando animais são tratados por uma combinação de anticorpos anti-CMKLR1 e anti-41BB.

Exemplo 7.2. Efeito terapêutico sobre crescimento tumoral em um modelo de carcinoma de cólon

[00220] Camundongos C57bl/6J machos de 8 semanas foram anestesiados com 3% de isoflurano. Os camundongos tiveram o flanco raspado e células da linhagem celular MC38 ($0,5 \times 10^6$ células/camundongo) foram injetadas por via subcutânea com uma seringa para insulina (30 Gauges) em 50 μ L de PBS. Usou-se outro modelo, no qual camundongos Balb/c machos de 8 semanas foram anestesiados com 3% de isoflurano. Os

camundongos tiveram o flanco raspado e células CT26 (1×10^6 células/camundongo) foram injetadas por via subcutânea com uma seringa para insulina (30 Gauges) em 50 μ L de PBS.

[00221] O anticorpo agonista anti-CMKLR1 (2G1) ou um anticorpo anti-SIRPa (p84, anti-SIRPa de camundongo da Merck Millipore) (SIRPa é um novo inibidor de *checkpoint*) foram injetados uma vez por semana (20 μ g/injeção) via intraperitoneal por 3 semanas, iniciando em d4 após a inoculação do tumor, isoladamente ou combinados.

[00222] Resultados: Como mostrado na **Figura 9 A-C**, no modelo de carcinoma CT26, o anticorpo anti-CMKLR1 por si mesmo (**Figura 9B**) não demonstrou um efeito clínico sobre o desenvolvimento do tumor em comparação ao grupo controle, nem o anti-SIRPa sozinho (**Figura 9A**). No entanto, e surpreendentemente, a combinação dos dois compostos tornou possível uma inibição do crescimento tumoral de maneira oportuna (**Figura 9C**). Em outro modelo de carcinoma de cólon em camundongos apresentado na **Figura 9D**, o anti-CMKLR1 não mostrou eficácia na inibição do crescimento tumoral em comparação ao isotipo controle. Em conjunto, esses resultados para dois modelos diferentes de carcinoma de cólon indicam que um anticorpo agonista anti-CMKLR1 pode evitar o desenvolvimento do tumor por si mesmo ou em combinação com outro agente terapêutico.

Exemplo 8. Meta-análise da expressão de CMKLR1 em biópsias de pacientes humanos com colite ulcerativa ou doença de Crohn tratados por uma terapia com anticorpo anti-TNF α ou anti- $\alpha 4\beta 7$

[00223] Redes de sinalização que perpetuam uma inflamação crônica intestinal na doença de Crohn (CD) e na colite ulcerativa (UC), as duas formas principais de doença inflamatória intestinal (IBD), permanecem pouco claras. De acordo com uma análise de quase 500 pacientes com doença inflamatória intestinal e 100 controles, os inventores relatam aqui que transcritos de CMKLR1 acumulam-se em tecidos do cólon inflamado de

pacientes com doença inflamatória intestinal grave que não estavam respondendo a imunossuppressores/corticosteroides e imunoterapias tais como terapias com anti-TNF α (infliximabe) ou anti- α 4 β 7 integrina (vedolizumabe).

[00224] Os inventores inicialmente analisaram a expressão de transcritos de CMKLR1 na mucosa, realizando uma meta-análise de conjuntos de dados transcricionais disponíveis publicamente de três coortes de pacientes com colite ulcerativa (GSE16879(Arijs *et al.*, 2009a) e GSE12251(Arijs *et al.*, 2009b), e GSE73661 com biópsias da mucosa do cólon realizadas antes do tratamento anti-TNF (em uma semana) em pacientes refratários a corticosteroides e/ou imunossupressão. Nessas três coortes, resposta ao anti-TNF foi definida como cura histológica analisada 4-6 semanas depois da primeira infusão do anti-TNF (em conjunto: n=18 controles sem doença inflamatória intestinal, n=41 não respondedores com colite ulcerativa e n=28 respondedores com colite ulcerativa).

[00225] Resultados: A análise mostrou que a expressão de transcritos de CMKLR1 está significativamente aumentada em biópsias do cólon de pacientes não respondedores com colite ulcerativa primária antes e depois do tratamento com terapia anti-TNF em comparação a controles sem doença inflamatória intestinal ou pacientes com colite ulcerativa antes do anti-TNF e que responderão à terapia anti-TNF (**Figura 10A**). A expressão de CMKLR1 na mucosa está também significativamente aumentada em biópsias do cólon ou íleo de pacientes com doença de Crohn (n=24 controles sem doença inflamatória intestinal, n=17 não respondedores com doença de Crohn e n=20 respondedores com doença de Crohn; GSE16879(Arijs *et al.*, 2009a)) antes e depois da terapia anti-TNF em pacientes que responderão ao anti-TNF em comparação a controles sem doença inflamatória intestinal ou futuros respondedores (**Figura 10B**). Finalmente, a análise da expressão gênica na mucosa do cólon em uma coorte de pacientes com colite ulcerativa (GSE7366146), tratados com terapia anti- α 4 β 7 (vedolizumabe) confirmou

também que a expressão de CMKLR1 está também significativamente aumentada em não respondedores antes e depois do tratamento com Vedolizumabe (**Figura 11**).

[00226] Em conjunto, a meta-análise mostra a superexpressão de CMKLR1 é em tecidos inflamados de pacientes com doença inflamatória intestinal, em particular em pacientes que não respondem aos imunossupressores ou imunoterapias atuais mesmo antes do início do tratamento. Essa meta-análise fornece evidência de que a expressão de CMKLR1 no cólon, ou melhor no íleo para colite ulcerativa, de pacientes com colite ulcerativa ou doença de Crohn que são refratários ao tratamento pode, em contraste, qualificar esses pacientes como responsivos a um tratamento com anticorpo agonista anti-CMKLR1 tal como um anticorpo da invenção.

Exemplo 9. Expressão de CMKLR1 e estudo de ligação do anticorpo

Ligação de CMKLR1 por ELISA (**Figura 12**)

[00227] O peptídeo CMKLR1 (273NH₂-PYHTLNLELHHTAMPGSVFSLGLPLATALAIA-COOH305) (SEQ ID No: 18) (5 µg/mL) foi revestido em tampão borato durante a noite. A saturação foi realizada com PBS-Tween 0,1%-Gelatina 0,25% por 2 horas a 37 °C. Em seguida, os anticorpos 2G1 ou hIgG1 foram adicionados em concentrações diferentes por 2 horas a 37 °C. Em seguida, um anticorpo secundário conjugado à peroxidase (0,8 µg/mL) foi adicionado por 1 hora a 37 °C e revelado por um substrato TMB. A reação colorimétrica foi lida com TECAN.

Expressão de CMKLR1 por FACS (**Figura 13A**)

[00228] Células foram ressuspensas em PBS-FBS-EDTA e incubadas com Fc block (1/50) por 30 minutos em gelo. A coloração em monócitos, macrófagos e células dendríticas foi realizada usando 2G1 marcado com A488 (5 µg) ou hIgG1 marcado com A488 (5 µg).

Análise de CMKLR1 por *Western Blotting* (**Figura 13B**)

[00229] Após a migração e transferência das proteínas como descrito anteriormente, o anticorpo 2G1 (10 µg/membrana) foi incubado durante a noite a 4 °C e revelado com um anticorpo secundário conjugado à peroxidase (1:2000). A expressão de CMKLR1 foi então detectada com Quimioluminescência e Leitor de Imagem. As imagens de *Western blot* foram quantificadas pelo *software* Multi Gauge.

[00230] Resultados: os resultados ilustrados na **Figura 12** confirmam que o clone 2G1 do anticorpo anti-CMKLR1 é capaz de ligar-se ao polipeptídeo formando a alça EL3 de CMKLR1. A expressão de CMKLR1, em diferentes linhagens celulares avaliadas usando o anticorpo 2G1, por FACS e *Western blotting* mostrou que as linhagens de células T tumorais humanas Trp1 e U937 expressam CMKLR1, bem como células CHO transduzidas com CMKLR1 e a linhagem de células MRC5 de fibroblastos pulmonares humanos e a linhagem NKL de células NK humanas (**Figura 13**).

Exemplo 10. Estudo da expressão de CMKLR1 em linhagem mieloide

Exemplo 10.1. Diferenciação e polarização de monócitos humanos

[00231] Monócitos foram coletados dentre os PBMC da camada leucocitária de voluntários sadios e isolados por separação magnética ou por elutriação. Em seguida, os monócitos foram cultivados com diferentes coquetéis de citocinas para gerar macrófagos diferenciados não polarizados ou macrófagos polarizados. Esse protocolo permitiu gerar macrófagos diferenciados polarizados para que houvesse macrófagos pró-(M1) ou anti-(M2) inflamatórios em poços diferentes. Os monócitos semeados a $0,5 \times 10^6$ células/mL em RPMI complete (RPMI com FBS 10%, glutamina 1%, antibióticos 1%) e 500 µL da suspensão celular foi semeada por poço em uma placa de 24 poços. Adicionou-se M-CSF 100 ng/mL of M-CSF com meio para diferenciação das células. As células foram incubadas 5 dias e o meio foi substituído por meio fresco complementado com M-CSF 100 ng/mL no Dia 3. Para as fases de polarização, solução de LPS-IFN γ a 100 ng/mL de LPS e

IFNG 20 ng/mL complementado com isotipos controle (mIgG1 ou hIgG4) (2 µg/mL) ou anticorpos anti-CMKLR1 (2 µg/mL) (2G1 ou 2G4, H6, BZ332 ou 84939) ou com peptídeo C15 (10 nM) ou RvE1 (10 ng/mL) durante 3 dias para gerar macrófagos M1. Macrófagos M1-IFNg podem também ser gerados adicionando somente IFNg (20 ng/mL) ao meio de cultura. Para polarização de M2, as células foram incubadas com IL-4 a 20 ng/mL. Após a diferenciação e/ou polarização, o fenótipo e a liberação de citocinas/quimiocinas funcionais foi estudado por análise de FACS, ELISA e *Western blotting*.

Exemplo 10.2. Macrófagos de camundongos e isolamento e diferenciação de DCs

- Isolamento de macrófagos murinos derivados de medula óssea

[00232] Células da medula óssea foram coletadas e cultivadas no meio RPMI, suplementado com FBS 10%, glutamina e antibióticos, contendo fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF) a 100 ng/mL por 5 dias, induzindo a diferenciação dos macrófagos. Os macrófagos foram coletados e cultivados por 2 dias com IFNg (20 ng/mL) e LPS (100 ng/mL) induzindo a polarização de M1 ou com IL-4 (20 ng/mL) induzindo a polarização de M2. Os tratamentos foram adicionados durante a polarização dos macrófagos a 2 µg/mL.

- Geração de células dendríticas derivadas da medula óssea

[00233] Células da medula óssea foram coletadas e cultivadas no meio RPMI, suplementado com FBS 10%, glutamina e antibióticos e a diferenciação de células dendríticas foi induzida por GM-CSF a 20 ng/mL por 7 dias. Em seguida, células dendríticas imaturas (iDC) foram coletadas e cultivadas por 24 horas com LPS (100 ng/mL) para induzir a maturação de iDC para mDC. Os tratamentos foram adicionados durante a diferenciação e maturação a 2 µg/mL.

[00234] Após a diferenciação de M1 ou M2 de camundongos como

explicado acima, as células foram incubadas na presença de meio, isotipo controle, anticorpos anti-CMKLR1: foram usados os clones H6 e BZ194, peptídeos C15, o anticorpo 2G1 anti-CMKLR1 de interesse ou RvE1. Em seguida, a secreção de IL10, CCL17 e IL12p40 foi avaliada por ELISA. A secreção de citocinas foi medida no sobrenadante com um kit de da. Os sobrenadantes foram diluídos 1/10 para citocinas IL10, 1/50 para citocinas CCL17 e 1/100 para citocinas IL12p40.

Estudo da secreção de citocinas por ELISA

[00235] A secreção de citocinas foi detectada por ELISA de acordo com as instruções do fabricante BD. Resumidamente, os sobrenadantes foram diluídos no tampão adequado e incubados por 2 horas após o revestimento durante a noite com anticorpo de captura e saturação. Em seguida, as citocinas foram reveladas com um anticorpo de detecção acoplado à biotina e o sinal foi amplificado com o sistema de peroxidase acoplada à biotina-estreptavidina. TMB fornecido pela BD Bioscience foi usado como substrato e a reação colorimétrica foi lida com TECAN.

Marcadores de ativação celular analisados por FACS

[00236] Células dendríticas foram ressuspensas em PBS-FBS-EDTA e incubadas com o corante *live* e *dead* (LIVE/DEAD® Fixable Dead Cell Stains Yellow-Life Technologies) por 30 minutos em gelo. Realizou-se a coloração de CD11c-BV711, CD11b-APCCy7, I/Ab-APC, CD103-PerCPCy5.5, CCR7-V450, CD40-PeCy7, CD80-PE, CD86-FITC (todos fornecidos pela BD Pharmingen).

Análise de ERK/Akt por *Western Blotting*

[00237] Macrófagos pró-inflamatórios (M1) de camundongos foram gerados a partir da medula óssea com M-CSF e polarizados com IFN-gama (IFN γ) e LPS. Resumidamente, células da medula óssea foram coletadas por *flushing* (lavagem) do osso femoral e cultivadas com mM-CSF 100 ng/mL por 5 dias e então polarizadas com IFN γ 20 ng/mL e LPS 100 ng/mL por 24h.

Em seguida, foram privadas de FBS por 24 horas com meio RPMI mais FBS 2%. Finalmente, os M1 de camundongos foram tratados com anticorpo 1G1 2 µg/mL em diferentes momentos: 5, 10 e 30 minutos. As células foram coletadas em um tampão RIPA. A concentração de proteínas foi medida por um ensaio do kit de proteína com BCA. As proteínas foram desnaturadas por aquecimento a 95 °C por 5 minutos e diluídas em DTT e solução de Laemmli. Após migração e transferência, a membrana de nitrocelulose foi bloqueada com BSA 5% em TBS-T por 2 horas. Anticorpo anti-fosfo-ERK e anticorpo anti-fosfo-Akt (1:1000) foram incubados com a membrana durante a noite a 4 °C e revelados com um anticorpo secundário conjugado à peroxidase (1:2000). As imagens de *Western blot* foram quantificadas pelo *software* Multi Gauge

Exemplo 10.3: Expressão de CMLKR1 após estímulos inflamatórios em monócitos humanos do sangue e neutrófilos e células mielóides da medula óssea de camundongos

[00238] Monócitos humanos foram coletados dentre os PBMC da camada leucocitária de voluntários sadios e isolados por separação magnética ou por elutrição. Em seguida, os monócitos (células CD14 positivas) foram cultivados em meio e tratados com diferentes estímulos pró-inflamatórios por 16 horas ou 48 horas: LPS (100 ng/mL) ou TNFa (10.000 U/mL) ou IL6 (20 ng/mL).

[00239] Monócitos de camundongos (CD11b+ Ly6G- SSClow) e neutrófilos (CD11b+ Ly6G- SSClow) foram obtidos de células da medula óssea coletadas e cultivadas em meio RPMI suplementado com FBS 10%, glutamina e antibióticos. As células foram então cultivadas no meio e tratadas com diferentes estímulos pró-inflamatórios por 16 horas ou 48 horas: LPS (100 ng/mL) ou TNFa (10.000 U/mL) ou IL6 (20 ng/mL).

[00240] A expressão de CMLKR1 foi medida por FACS utilizando anticorpos anti-CMKLR1 comerciais (anti-ChemR23 humana: clone 84939 e

anti-ChemR23 de camundongo: clone 477806).

[00241] Resultados: A análise da expressão de CMKLR1 em linhagem mieloide de camundongos ilustrada na **Figura 14** revelou uma boa expressão da proteína em monócitos e macrófagos do tipo 1 e 2, bem como em células dendríticas. Na **Figura 19**, é ilustrada a expressão de CMKLR1 em monócitos humanos e células mieloides e neutrófilos da medula óssea de camundongos. Essa expressão é claramente aumentada por estímulos inflamatórios tais como LPS, TNFa ou IL6 (ao menos de duas vezes quando comparada ao controle depois de 48h), confirmando que a expressão de CMKLR1 na linhagem em células mieloides e a superexpressão durante a inflamação poderia representar uma abordagem terapêutica para regular negativamente e/ou induz a resolução da inflamação. O estudo das citocinas inflamatórias secretadas por macrófagos M1 ou M2 de camundongos, ilustrado na **Figura 15**, revelou que somente o clone 2G1, um anticorpo anti-CMKLR1, induziu citocinas anti-inflamatórias IL10 e CCL17 pelos macrófagos tipo M2 (**Figura 15A e 15B**) e diminuiu as citocinas pró-inflamatórias de macrófagos tipo M1 (**Figura 15C**). O resultado foi diferente para células tratadas com RvE1 ou com peptídeo C15 da parte C terminal da Chemerina (Cash *et al.*, 2008) ou mesmo com outros anticorpos anti-CMKLR1 comerciais, indicando uma característica muito interessante do anticorpo 2G1 como um composto anti-inflamatório. Em seguida, os inventores estudaram a expressão das citocinas em células mieloides humanas obtidas de doadores e incubadas com os diferentes compostos. Os resultados apresentados na **Figura 16** mostram que 2G4 induz a polarização de M2 das células em comparação ao controle ao anticorpo comercial C7 contra CMKLR1, confirmando os resultados obtidos em células de camundongos. Somente o anticorpo 2G1 foi capaz de induzir as citocinas anti-inflamatórias IL10 e CCL17 por macrófagos tipo M2 (**Figura 16A e 16B**) e foi capaz de diminuir a secreção da citocina IL12p40 por macrófagos tipo M1 (**Figura 16C**). Finalmente, os marcadores de ativação de DC foram

analisados por FACS e os resultados ilustrados na **Figura 17** mostram uma forte diminuição da expressão de CD80, CD86, CD103, CD40 e IAb quando as células foram tratadas com lipídio RvE1 ou com o anticorpo 2G1 em comparação ao excipiente ou o isotipo controle. Esses resultados indicam que o anticorpo 2G1 é tão ativo na via de CMKLR1 em DCs quanto RVE1. Em seguida, os inventores analisaram a via de ativação de CMKLR1 em macrófagos de camundongos por *Western blotting*. A **Figura 18** mostra que o anticorpo 2G1 anti-CMKLR1 foi capaz de induzir a ativação de ambas as proteínas Akt e Erk depois de 10 a 30 minutos de incubação. Esses resultados indicam que o anticorpo 2G1 é capaz de exibir uma propriedade agonista contra o receptor CMKLR1 como com o lipídio RvE1.

[00242] Exemplo 11. Estudo de competição sobre ativação de CMKLR1 induzida por Chemerina com anticorpo anti-CMKLR1

Métodos

Ensaio de competição para medir o recrutamento de B-arrestina dependente de Chemerina pelo receptor CMKLR1 na presença de anticorpo anti-CMKLR1

[00243] No dia anterior ao ensaio, células CHO-K1 CMKLR1 (Discover'X ref. 93-0313E2) foram semeadas em reagente celular pré-aquecido, a seguir, em uma placa de 96 poços a 100 µL/poço de células como (Discover'X ref. 15-103) e incubadas 48 horas a 37 °C, em incubador umidificada com CO2 5%. O anticorpo anti-CMLKR1 foi diluído (22X em uma série de 7 pontos de diluições três vezes a partir de 1 µM a 1 nM) e as células foram incubadas 30 minutos a 37 °C com o anticorpo. Depois, as células foram estimuladas com Chemerina (2 ou 6 nM) de acordo com o protocolo do fornecedor (Discover'x ref. 92-1036) 90 minutos a 37 °C. A luminescência foi medida após a adição da Solução de Trabalho de Detecção às células com um leitor de placas com integração de 0,5 s.

Medição da competição do anticorpo anti-CMKLR1 com Chemerina na

produção de AMPc pelo receptor CMKLR1

[00244] No dia anterior ao experimento, células CHO-K1 CMKLR1 Gi (Discover'X ref. 95-0080C2) foram semeadas em reagente celular pré-aquecido, a seguir, em uma placa de 96 poços a 100 µL/poço de células como (Discover'X ref. 15-103) e incubadas 24 horas a 37 °C, em uma incubadora umidificada com CO2 5% por 24 horas.

[00245] Uma mistura de agonista de Chemerina (6x em uma série de 7 pontos de diluições de três de $10^{-7}\mu\text{M}$ a 10^{-10}M) (Discover'x ref. 92-1036 ou 2324-CM-025 da R&D Systems) e forskolina (40 µM) (um ativador de cAMP) (Discover'x ref. 92-0005) foi adicionada às células durante 30 minutos a 37 °C; ou células foram pré-incubadas 30 minutos a 37 °C com o anticorpo anti-CMKLR1 (diluição seriada: 6X em uma série de 7 pontos de diluições três vezes de 1 µM a 1 nM). A seguir, uma mistura de chemerina (2 nM) + forskolina (60 nM) foi adicionada às células durante 30 minutos a 37 °C. Para a detecção de cAMP, uma solução de detecção de tratamento com anticorpo reagente e cAMP foi adicionada à placa por 1 hora à temperatura ambiente, depois uma solução A de cAMP foi adicionada, e as células incubadas 3 horas à temperatura ambiente no escuro. A bioluminescência foi lida por um leitor de placa com integração de 0,5s.

[00246] Resultados: A fim de testar se o anticorpo da invenção é um antagonista da ativação de CMKLR1 induzida por Chemerina, realizaram-se dois ensaios, e os resultados são apresentados na **Figura 20**. A inibição da produção de cAMP dependente de forskolina, induzida por Chemerina, é mostrada na Figura 20A (círculos pretos ou quadrados branco); o anticorpo anti-CMLKR1 da invenção não pôde reverter essa inibição da produção (círculos pretos ou quadrados brancos) em comparação ao controle (losangos de cor cinza). A ativação da beta-arrestina induzida por Chemerina, apresentada na Figura 20B, mostra que o anticorpo anti-CMKLR1 da invenção não modificou significativamente a ativação dependente de

chemerina da beta-arrestina (círculos brancos em comparação a losangos pretos). Os anticorpos da invenção não têm atividade agonista da interação CMLKR1-Chemerina. Além disso, os anticorpos da invenção não são capazes de induzir a via de sinalização de CMKLR1 induzida por chemerina, confirmando que esses anticorpos não são agonistas de chemerina na via de CMLKR1.

Exemplo 12. Modelo de colite crônica por transferência de células T CD45Rb^{high}

[00247] Método: Células T CD4 CD45Rb^{high} foram isoladas do baço de camundongos virgens e separadas em um ARIA FACS após uma seleção negativa de células T CD4 por separação magnética, então, injetadas por via intraperitoneal a $0,5 \times 10^6$ células em 100 μ L de PBS em camundongos knock-out Rag1 fêmeas de 6 semanas de idade. O anticorpo anti-CMKLR1 (2G1) ou um isotipo controle foram administrados a partir do Dia 32 após a transferência de células T CD4 CD45Rb^{high} por 3 semanas, três vezes por semana, a 1 mg/kg. O acompanhamento do peso foi avaliado três vezes por semana e a variação no peso foi determinada em relação ao peso inicial. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

[00248] Resultados: A **Figura 21** apresenta a porcentagem de variação no peso ao longo do tempo após a administração do anticorpo de animais tratados com o anticorpo anti-CMLKR1 ou um isotipo controle. Os dois grupos apresentaram a mesma evolução do peso inicial ao longo dos primeiros 30 dias após o tratamento e começaram a se diferenciar no Dia 35. Camundongos tratados com o anti-CMKLR1 continuam a ganhar peso enquanto, em contraste, camundongos controle começam a perder peso, indicando o desenvolvimento de colite crônica como previsto nesse grupo controle. Os inventores confirmam, em um terceiro modelo de colite, aqui um modelo de inflamação crônica, que os anticorpos anti-CMKLR1 da invenção poderiam ser de interesse no tratamento de doenças inflamatórias crônicas e

autoimunes tais como colite.

Exemplo 13. Efeito antitumoral sobre a sobrevida global em um modelo tumoral de hepatocarcinoma em camundongos

[00249] Método: Camundongos foram anestesiados com um coquetel de xilazina/cetamina. Após uma laparotomia, células tumorais Hepa 1.6 foram injetados em PBS através da veia porta ($2,5 \times 10^6$ células/100 μ L) em PBS. O tratamento foi iniciado 4 dias após a injeção do tumor. O anticorpo anti-CMKLR1 (clone 2G1) e o isotipo controle hIgG1 foram injetados a 0,8 mg/kg três vezes por semana durante 2 semanas. O anticorpo monoclonal anti-PD1 foi injetado duas vezes a semana durante 2 semanas via intraperitoneal em PBS (8 mg/kg). A combinação de anticorpos anti-CMKLR1 e anti-PD1 foi testada também (0 8 mg/kg e 8 mg/kg respectivamente). A sobrevida global foi acompanhada durante sessenta dias e a porcentagem de sobrevida em cada condição foi relatada na Figura 22.

[00250] Resultados: Como mostrado na **Figura 22**, animais tratados com os anticorpos anti-CMKLR1 ou o anti-PD1 viram a sua sobrevida prolongada somente para 1 animal em 7 tratados (15% dos animais tratados) indicando uma resposta parcial (RP). No entanto, uma combinação de anticorpos anti-PD1 e anti-CMKLR1 em animais tratados permitiu um aumento significativo da taxa de sobrevida (de 15% para 45%), com animais vivos 60 dias após o tratamento, indicando uma resposta completa (RC). Esse resultado indica uma eficiência inesperada da combinação terapêutica (anticorpos anti-PD1/antiCMKLR1) em modelo de tumor HCC tumor.

Bibliografia

[00251] Arijs, I., De Hertogh, G., Lemaire, K., Quintens, R., Van Lommel, L., Van Steen, K., Leemans, P., Cleynen, I., Van Assche, G., Vermeire, S., et al. (2009a). Mucosal gene expressin of antimicrobial peptides in inflammatory bowel disease before and after first infliximab treatment. PloS One 4, e7984.

- [00252] Arijs, I., Li, K., Toedter, G., Quintens, R., Van Lommel, L., Van Steen, K., Leemans, P., De Hertogh, G., Lemaire, K., Ferrante, M., et al. (2009b). Mucosal gene signatures to predict response to infliximab in patients with ulcerative colitis. *Gut* 58, 1612–1619.
- [00253] Arijs, I., Hertogh, G.D., Lemmens, B., Lommel, L.V., Bruyn, M. de, Vanhove, W., Cleynen, I., Machiels, K., Ferrante, M., Schuit, F., et al. (2018). Effect of vedolizumab (anti- $\alpha 4\beta 7$ -integrin) therapy on histological healing and mucosal gene expression in patients with UC. *Gut* 67, 43–52.
- [00254] Bannenberg, G.L., Chiang, N., Ariel, A., Arita, M., Tjonahen, E., Gotlinger, K.H., Hong, S., and Serhan, C.N. (2005). Molecular circuits of resolution: formation and actions of resolvins and protectins. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 174, 4345–4355.
- [00255] Bozaoglu, K., Bolton, K., McMillan, J., Zimmet, P., Jowett, J., Collier, G., Walder, K., and Segal, D. (2007). Chemerin Is a Novel Adipokine Associated with Obesity and Metabolic Syndrome. *Endocrinology* 148, 4687–4694.
- [00256] Buckley, C.D., Gilroy, D.W., and Serhan, C.N. (2014). Proresolving Lipid Mediators and Mechanisms in the Resolution of Acute Inflammation. *Immunity* 40, 315–327.
- [00257] Cash, J.L., et al., 2008. Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through ChemR23. *J. Exp. Med.* 205, 767–775
- [00258] Ernst, M.C., and Sinal, C.J. (2010). Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends Endocrinol. Metab.* TEM 21, 660–667.
- [00259] Goralski, K.B., McCarthy, T.C., Hanniman, E.A., Zabel, B.A., Butcher, E.C., Parlee, S.D., Muruganandan, S., and Sinal, C.J. (2007). Chemerin, a Novel Adipokine That Regulates Adipogenesis and Adipocyte Metabolism. *J. Biol. Chem.* 282, 28175–28188.
- [00260] Ichim, G., and Tait, S.W.G. (2016). A fate worse than death:

apoptosis as an oncogenic process. *Nat. Rev. Cancer* 16, 539–548.

[00261] Kaur, J., Adya, R., Tan, B.K., Chen, J., and Randeva, H.S. (2010). Identification of chemerin receptor (ChemR23) in human endothelial cells: Chemerin-induced endothelial angiogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 391, 1762–1768.

[00262] Peyrassol, X., Laeremans, T., Gouwy, M., Lahura, V., Debulpaep, M., Damme, J.V., Steyaert, J., Parmentier, M., and Langer, I. (2016). Development by Genetic Immunization of Monovalent Antibodies (Nanobodies) Behaving as Antagonists of the Human ChemR23 Receptor. *J. Immunol.* 196, 2893–2901.

[00263] Roh, S., Song, S.-H., Choi, K.-C., Katoh, K., Wittamer, V., Parmentier, M., and Sasaki, S. (2007). Chemerin--a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 362, 1013–1018.

[00264] Samson, M., Edinger, A.L., Stordeur, P., Rucker, J., Verhasselt, V., Sharron, M., Govaerts, C., Mollereau, C., Vassart, G., Doms, R.W., et al. (1998). ChemR23, a putative chemoattractant receptor, is expressed in monocyte-derived dendritic cells and macrophages and is a coreceptor for SIV and some primary HIV-1 strains. *Eur. J. Immunol.* 28, 1689–1700.

[00265] Sell, H., Laurencikienė, J., Taube, A., Eckardt, K., Cramer, A., Horrigs, A., Arner, P., and Eckel, J. (2009). Chemerin Is a Novel Adipocyte-Derived Factor Inducing Insulin Resistance in Primary Human Skeletal Muscle Cells. *Diabetes* 58, 2731–2740.

[00266] Serhan, C.N. (2014a). Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature* 510, 92–101.

[00267] Serhan, C.N. (2014b). Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature* 510, 92–101.

[00268] Sulciner, M.L., Serhan, C.N., Gilligan, M.M., Mudge, D.K.,

Chang, J., Gartung, A., Lehner, K.A., Bielenberg, D.R., Schmidt, B., Dalli, J., et al. (2017). Resolvins suppress tumor growth and enhance cancer therapy. *J. Exp. Med.* jem.20170681.

[00269] Watts, S.W., Dorrance, A.M., Penfold, M.E., Rourke, J.L., Sinal, C.J., Seitz, B., Sullivan, T.J., Charvat, T.T., Thompson, J.M., Burnett, R., et al. (2013). Chemerin connects fat to arterial contraction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 33, 1320–1328.

[00270] Wittamer, V., Franssen, J.-D., Vulcano, M., Mirjolet, J.-F., Poul, E.L., Migeotte, I., Brézillon, S., Tyldesley, R., Blanpain, C., Detheux, M., et al. (2003). Specific Recruitment of Antigen-presenting Cells by Chemerin, a Novel Processed Ligand from Human Inflammatory Fluids. *J. Exp. Med.* 198, 977–985.

[00271] Zabel, B.A., Rott, A., and Butcher, E.C. (2015). Leukocyte chemoattractant receptors in human disease pathogenesis. *Annu. Rev. Pathol.* 10, 51–81.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto anti-CMKLR1 selecionado a partir do grupo de um anticorpo ou um fragmento de ligação de antígeno do mesmo ou um anticorpo quimérico, humanizado ou modificado que especificamente se liga a CMKLR1, dito composto caracterizado pelo fato de que compreende:

- um domínio de variável de cadeia pesada de anticorpo compreendendo os três CDRs VHCDR1, VHCDR2 e VHCDR3, em que:

- VHCDR1 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 4; SEQ ID No: 62; SEQ ID No: 63; SEQ ID No: 64 ou SEQ ID No: 65; e

- VHCDR2 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 6; SEQ ID No: 66; SEQ ID No: 67; SEQ ID No: 68; SEQ ID No: 69; SEQ ID No: 70; SEQ ID No: 71 ou SEQ ID No: 72; e

- VHCDR3 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 8; SEQ ID No: 73; SEQ ID No: 74 ou SEQ ID No: 75; e

- um domínio de variável de cadeia leve de anticorpo compreendendo os três CDRs VLCDR1, VLCDR2 e VLCDR3, em que:

- VLCDR1 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 12; SEQ ID No: 76; SEQ ID No: 77; SEQ ID No: 78; SEQ ID No: 79 ou SEQ ID No: 80; e

- VLCDR2 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 14; SEQ ID No: 81; SEQ ID No: 82; SEQ ID No: 83; SEQ ID No: 84; SEQ ID No: 85; SEQ ID No: 86; SEQ ID No: 87 ou SEQ ID No: 88; e

- VLCDR3 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 15 ou SEQ ID No: 89;

o dito composto se ligando especificamente a um epítopo

localizado dentro da terceira alça extracelular (EL3) de CMKLR1.

2. Composto anti-CMKLR1 de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que se liga especificamente a um polipeptídeo compreendendo a sequência de resíduos de aminoácidos da SEQ ID No: 2.

3. Composto anti-CMKLR1 de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de ser um antagonista do tipo Resolvina E1 de CMKLR1, em particular em que o composto anti-CMKLR1 é um fator pró-resolução, em particular em linhagens de células mieloides, em particular em que o composto anti-CMKLR1 é um composto CMKLR1 anti-humano.

4. Composto anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o VHCDR3 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148.

5. Composto anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que

- VHCDR1 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 4; SEQ ID No: 62; ou SEQ ID No: 63; e

- VHCDR2 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 67; SEQ ID No: 70 ou SEQ ID No: 72; e

- VHCDR3 compreende a, ou consiste na, sequência de aminoácido estabelecida na SEQ ID No: 144 ou SEQ ID No: 148.

6. Composto anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que

- VLCDR1 compreende a, ou consiste na, sequência de aminoácido estabelecida na SEQ ID No: 77; e

- VLCDR2 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 14; SEQ ID No: 81 ou SEQ ID No:

84; e

- VLCDR3 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 15 ou SEQ ID No: 89.

7. Composto anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que o domínio de variável de cadeia pesada compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No: 22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 24; SEQ ID No: 25; SEQ ID No: 26; SEQ ID No: 27; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 31; SEQ ID No: 32; SEQ ID No: 33; SEQ ID No: 34; SEQ ID No: 35; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; SEQ ID No: 39; SEQ ID No: 40; SEQ ID No: 41 ou SEQ ID No: 42; e em que o domínio de variável de cadeia leve compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

8. Composto anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que aumenta, *in vitro* e/ou *in vitro*, a secreção de citocinas anti-inflamatórias, em particular IL10 e/ou CCL17; mais particular IL01; e/ou inibe ou reduz *in vitro* e/ou *in vitro*, a secreção de citocinas pró-inflamatórias, em particular IL12; em particular por células mieloides expressando CMKLR1.

9. Composto anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que aumenta a polarização macrófaga para favorecer macrófagos tipo M2 anti-inflamatórios.

10. Composto anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que inibe a ativação e/ou a

proliferação de células dentríticas.

11. Composto anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que tem a capacidade *in vitro* e/ou *in vivo* de induzir a fosforilação de Akt e/ou Erk após a ativação de CMKLR1, em particular a fosforilação de ambos Akt e Erk induzidos após a ativação de CMKLR1.

12. Composto anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que não compete com Chemerina na ligação a CMKLR1, ou não interfere na ligação de Chemerina a CMKLR1.

13. Composto anti-CMKLR1 selecionado a partir do grupo de um anticorpo, um fragmento de ligação de antígeno do mesmo ou um anticorpo quimérico, humanizado ou modificado, que especificamente se liga a CMKLR1, dito composto caracterizado pelo fato de que compreende um domínio de variável de cadeia pesada de anticorpo compreendendo um VHCDR3 que compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 8 ou uma sequência mutada do mesmo em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituídos desde que os resíduos de aminoácidos na posição 1 e 2 da SEQ ID No: 8 sejam respectivamente L e I ou L; e

em que o composto anti-CMKLR1 se liga especificamente a um epítipo localizado dentro da terceira alça extracelular (EL3) de CMKLR1, em particular em que o composto se liga especificamente a um polipeptídeo compreendendo ou consistindo em resíduos de aminoácidos da sequência SEQ ID No: 2; e

em que o composto anti-CMKLR1 é um antagonista do tipo Resolvina E1 de CMKLR1, em particular em que o composto anti-CMKLR1 é um fator pró-resolução, em particular em linhagens de células mieloides; e

em que o dito composto compete com um anticorpo

compreendendo o domínio de variável pesada correspondente a SEQ ID No: 9 e o domínio de variável de cadeia leve correspondente a SEQ ID No: 16 para a ligação a um polipeptídeo compreendendo ou consistindo em resíduos de aminoácido da sequência SEQ ID No: 2 ou a um polipeptídeo compreendendo ou consistindo na terceira alça (EL3) do domínio extracelular de CMKLR1, o dito composto sendo considerado para competir quando bloqueia a ligação do anticorpo compreendendo o domínio de variável pesada correspondente a SEQ ID No: 9 e o domínio de variável de cadeia leve correspondente a SEQ ID No: 16 para o polipeptídeo por pelo menos 20%, como comparado a um controle realizado na ausência do composto anti-CMKLR1.

14. Composto anti-CMKLR1 de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que

- o domínio de variável de cadeia pesada de anticorpo compreende os três CDRs VHCDR1, VHCDR2 e VHCDR3, em que:

- VHCDR1 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 4; SEQ ID No: 62; SEQ ID No: 63; SEQ ID No: 64 ou SEQ ID No: 65; e

- VHCDR2 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 6; SEQ ID No: 66; SEQ ID No: 67; SEQ ID No: 68; SEQ ID No: 69; SEQ ID No: 70; SEQ ID No: 71 ou SEQ ID No: 72; e

- VHCDR3 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 8; SEQ ID No: 73; SEQ ID No: 74 ou SEQ ID No: 75; e

- compreendendo adicionalmente um domínio de variável de cadeia leve de anticorpo compreendendo os três CDRs VLCDR1, VLCDR2 e VLCDR3, em que:

- VLCDR1 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 12; SEQ ID No: 76; SEQ ID No:

77; SEQ ID No: 78; SEQ ID No: 79 ou SEQ ID No: 80; e

- VLCDR2 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 14; SEQ ID No: 81; SEQ ID No: 82; SEQ ID No: 83; SEQ ID No: 84; SEQ ID No: 85; SEQ ID No: 86; SEQ ID No: 87 ou SEQ ID No: 88; e

- VLCDR3 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 15 ou SEQ ID No: 89.

15. Molécula de ácido nucleico, ou uma série de moléculas de ácido nucleico, mais particularmente molécula(s) de ácido nucleico isoladas e/ou molécula(s) de ácido nucleico recombinantes, caracterizada pelo fato de que codifica(m) um composto anti-CMKLR1 como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 14, mais particular uma molécula de ácido nucleico ou uma série de moléculas de ácido nucleico que codifica(m) um domínio de variável de cadeia pesada compreendendo ou consistindo nos resíduos de aminoácido das sequências estabelecidas na SEQ ID No: 20; SEQ ID No: 21; SEQ ID No: 22; SEQ ID No: 23; SEQ ID No: 24; SEQ ID No: 25; SEQ ID No: 26; SEQ ID No: 27; SEQ ID No: 28; SEQ ID No: 29; SEQ ID No: 30; SEQ ID No: 31; SEQ ID No: 32; SEQ ID No: 33; SEQ ID No: 34; SEQ ID No: 35; SEQ ID No: 36; SEQ ID No: 37; SEQ ID No: 38; SEQ ID No: 39; SEQ ID No: 40; SEQ ID No: 41 ou SEQ ID No: 42 e/ou um domínio de variável de cadeia leve compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: SEQ ID No: 43; SEQ ID No: 44; SEQ ID No: 45; SEQ ID No: 46; SEQ ID No: 47; SEQ ID No: 48; SEQ ID No: 49; SEQ ID No: 50; SEQ ID No: 51; SEQ ID No: 52; SEQ ID No: 53; SEQ ID No: 54; SEQ ID No: 55; SEQ ID No: 56; SEQ ID No: 57; SEQ ID No: 58; SEQ ID No: 59; SEQ ID No: 60 ou SEQ ID No: 61.

16. Molécula de ácido nucleico ou série de moléculas de ácido nucleico de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que a(s) molécula(s) de ácido nucleico compreende(m) adicionalmente sequências de

regulação para a transcrição e expressão do domínio de variável de cadeia pesada e/ou o domínio de variável de cadeia leve codificado.

17. Vetor, caracterizado pelo fato de que compreende a, ou consiste na, molécula de ácido nucleico operavelmente conectada ou uma série de moléculas de ácido nucleico como definido na reivindicação 15 ou 16, o vetor sendo em particular um vetor recombinante e/ou um vetor isolado.

18. Vetor de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de ser um plasmídeo, um cromossoma artificial, um cosmídeo ou um vetor viral.

19. Célula hospedeira, caracterizada pelo fato de que compreende as moléculas de ácido com definidas na reivindicação 15 ou 16, ou um vetor de acordo com a reivindicação 17 ou 18.

20. Célula hospedeira de acordo com a reivindicação 19, caracterizada pelo fato de ser uma célula de mamífero, em particular uma célula do Ovário de Hamster Chinês (CHO).

21. Composto anti-CMKLR1 selecionado a partir do grupo que consiste em um anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, uma molécula de ácido nucleico ou uma série de moléculas de ácido nucleico de acordo com a reivindicação 15 ou 16, um vetor de acordo com a reivindicação 17 ou 18, e/ou uma célula hospedeira de acordo com a reivindicação 19 ou 20;

caracterizado pelo fato de ser para uso na prevenção e/ou tratamento de uma doença inflamatória, em particular em doenças inflamatórias agudas, doenças inflamatórias crônicas tais como asma, ceratoconjuntivite, doença periodontal, eczema, doença inflamatória do intestino, em particular doença de Crohn ou colite, em particular colite ulcerosa ou colite espontânea, em particular em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida.

22. Composto anti-CMKLR1 para uso de acordo com a

reivindicação 21, caracterizado pelo fato de ser no tratamento de uma doença inflamatória do intestino, em particular colite ou doença de Crohn, em um sujeito cujas células mieloides têm superexpressão de CMKLR1, em particular em um sujeito que não responde a corticosteroides e/ou tratamento imunossupressor.

23. Composto anti-CMKLR1 para uso de acordo com a reivindicação 21 ou 22, caracterizado pelo fato de ser no tratamento prolongado de colite e/ou no tratamento de colite avançada.

24. Composto anti-CMKLR1 selecionado a partir do grupo que consiste em um anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, uma molécula de ácido nucleico ou uma série de moléculas de ácido nucleico de acordo com a reivindicação 15 ou 16, um vetor de acordo com a reivindicação 17 ou 18, e/ou uma célula hospedeira de acordo com a reivindicação 19 ou 20;

para uso na prevenção e/ou no tratamento de uma doença autoimune, como diabetes, em particular diabetes tipo I, psoríase, lúpus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, doença celíaca, vasculite, miastenia gravis ou uma doença infecciosa como como sepse, peritonite, doenças degenerativas, distúrbios de cicatrização de feridas ou síndrome do olho seco, em particular em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida.

25. Composto anti-CMKLR1 selecionado a partir do grupo que consiste em um anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, uma molécula de ácido nucleico ou uma série de moléculas de ácido nucleico de acordo com a reivindicação 15 ou 16, um vetor de acordo com a reivindicação 17 ou 18, e/ou uma célula hospedeira de acordo com a reivindicação 19 ou 20;

para uso na prevenção e/ou no tratamento de um câncer, cânceres metastáticos, em particular cânceres sólidos e líquidos, como

carcinoma, mais particularmente hepatocarcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer de pulmão ou câncer mieloide, como leucemia, em particular um câncer em que as células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1, em particular em que a resolução da inflamação é retardada ou interrompida.

26. Composto anti-CMKLR1 selecionado a partir do grupo que consiste em um anti-CMKLR1 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, molécula de ácido nucleico ou uma série de moléculas de ácido nucleico de acordo com a reivindicação 15 ou 16, um vetor de acordo com a reivindicação 17 ou 18, e/ou uma célula hospedeira de acordo com a reivindicação 19 ou 20;

para uso na prevenção e/ou no tratamento de um câncer, cânceres metastáticos, em particular cânceres sólidos e líquidos, como carcinoma, mais particularmente hepatocarcinoma, em particular carcinoma mamário ou carcinoma de cólon, ou câncer de pulmão ou câncer mieloide, como leucemia, em um câncer em que as células cancerosas expressam CMKLR1 ou onde o microambiente do tumor é invadido por células que expressam ou superexpressam CMKLR1.

27. Produto de combinação, caracterizado pelo fato de que compreende:

- pelo menos um composto anti-CMKLR1 como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 14, uma molécula de ácido nucleico ou uma série de moléculas de ácido nucleico como definidas na reivindicação 15 ou 16, um vetor como definido na reivindicação 17 ou 18, e/ou uma célula hospedeira como definida na reivindicação 19 ou 20; e

- pelo menos um segundo agente terapêutico selecionado do grupo que consiste em agentes quimioterapêuticos, agentes de radioterapia, agentes imunoterapêuticos, agentes de terapia celular, antibióticos e

probióticos; em particular, agentes imunoterapêuticos selecionados do grupo que consiste em bloqueador de checkpoint ou ativador de células imunes adaptativas, particularmente selecionados do grupo que consiste em anti-PDL1, anti-PD1, anti-CTLA4, anti-SIRPa, anti-CD137, anti-CD2, anti-CD28, anti-CD40, anti-HVEM, anti-BTLA, anti-CD160, anti-TIGIT, anti-TIM-1/3, anti-LAG-3, anti-2B4 e anti-OX40, agonista de anti-CD40, CD40-L, agonistas de TLR, anti-ICOS, ICOS-L e agonistas do receptor de células B, em particular anti-PD1, anti-PDL1, anti-SIRPa e/ou anti-CD137; para uso simultâneo, separado ou sequencial como um medicamento.

28. Combinação de composto, caracterizado pelo fato de que compreende um composto anti-CMKLR1 como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 14, uma molécula de ácido nucleico ou uma série de moléculas de ácido nucleico como definidas na reivindicação 15 ou 16, um vetor como definido na reivindicação 17 ou 18, e/ou uma célula hospedeira como definida na reivindicação 19 ou 20;

e um composto anti-PD1 ou anti-PDL1 selecionado dentre o grupo que consiste em um anticorpo, um fragmento de ligação de antígeno do mesmo ou um anticorpo quimérico, humanizado ou modificado, um anticorpo modificado ou um mimético de anticorpo de ligação de antígeno.

29. Combinação de composto de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que compreende um composto anti-CMKLR1 como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11, um anticorpo anti-PD1, mais particularmente em que o composto anti-PD1 é um anticorpo anti-PD1 monoclonal.

30. Combinação de composto, caracterizado pelo fato de que compreende um composto anti-CMKLR1 como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 14, uma molécula de ácido nucleico ou uma série de moléculas de ácido nucleico como definidas na reivindicação 15 ou 16, um vetor como definido na reivindicação 17 ou 18, e/ou uma célula hospedeira

como definida na reivindicação 19 ou 20;

e um composto anti-SIRPa selecionado dentre o grupo que consiste em um anticorpo, um fragmento de ligação de antígeno do mesmo ou um anticorpo quimérico, humanizado ou modificado, um anticorpo modificado ou um mimético de anticorpo de ligação de antígeno, mais particularmente um anticorpo anti-SIRPa ou um fragmento de ligação de antígeno do mesmo.

31. Método para selecionar um composto anti-CMKLR1, dito método caracterizado pelo fato de que compreende as seguintes etapas:

a) prover um composto selecionado a partir do grupo de um anticorpo ou um fragmento de ligação de antígeno do mesmo ou um anticorpo quimérico ou humanizado; o dito composto compreendendo:

- um domínio de variável de cadeia pesada de anticorpo compreendendo os três CDRs VHCDR1, VHCDR2 e VHCDR3, em que:

- VHCDR1 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 4 ou uma sequência mutada do mesmo em que o(s) resíduo(s) de aminoácido é/são substituído(s); e

- VHCDR2 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 6 ou uma sequência mutada do mesmo em que o(s) resíduo(s) de aminoácido é/são substituído(s); e

- VHCDR3 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 8 ou uma sequência mutada do mesmo em que o(s) resíduo(s) de aminoácidos é/são substituído(s) desde que os resíduos de aminoácidos na posição 1 e 2 da SEQ ID No: 8 sejam respectivamente L e I ou L; e

- um domínio de variável de cadeia leve de anticorpo compreendendo os três CDRs VLCDR1, VLCDR2 e VLCDR3, em que:

- VLCDR1 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 12 ou uma sequência mutada do

mesmo em que o(s) resíduo(s) de aminoácido é/são substituído(s); e

- VLCDR2 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 14 ou uma sequência mutada do mesmo em que o(s) resíduo(s) de aminoácido é/são substituído(s); e

- VLCDR3 compreende as, ou consiste nas, sequências de aminoácido estabelecidas na SEQ ID No: 15 ou uma sequência mutada do mesmo em que o(s) resíduo(s) de aminoácido é/são substituído(s); e

b) testar a capacidade do composto de ser um agonista tipo RvE1 de CMKLR1, em particular testar a capacidade do composto de favorecer a resolução da inflamação, em particular em células mieloides; e opcionalmente

c) testar a capacidade de ligação por Biossensor do composto a um epítipo localizado dentro da terceira alça E3 de CMKLR1, em particular a capacidade de ligação do composto a um polipeptídeo compreendendo os resíduos de aminoácido da SEQ ID No: 2 ou SEQ ID No: 152; e opcionalmente

d) testar a habilidade do composto de não competir com a ligação de chemerina a CMKLR1;

e) e quando a capacidade de ligação do composto testado na etapa c) for pelo menos 10^{-8} KD,

i) testar a capacidade do composto de induzir a fosforilação de Akt e/ou a fosforilação de Erk após a ligação do composto a CMKLR1, em particular a fosforilação de ambos Akt e Erk; um composto sendo capaz de induzir fosforilação de Akt e/ou Erk quando proteínas fosforiladas Akt ou Erk são detectadas em células de camundongos M1 após 30 minutos de incubação com o composto, e/ou

ii) testar a capacidade do composto de aumentar a secreção de citocinas anti-inflamatórias, em particular IL 10 e/ou CCL17; e/ou a capacidade do composto de inibir ou reduzir a secreção de citocinas pró-

inflamatórias, em particular IL12; em particular em células mieloides expressando CMKLR1; um composto sendo capaz de induzir a secreção de citocinas anti-inflamatórias quando a expressão de IL10 e CCL17 por macrófagos humanos M1 ou M2 é aumentada na presença do composto como comparado a um controle, um composto sendo capaz de inibir ou reduzir a secreção de citocinas pró-inflamatórias quando a expressão de IL12-p40 por macrófagos humanos M1 ou M2 é reduzida na presença do composto como comparado a um controle e/ou

iii) testar a capacidade do composto de aumentar a polarização macrófaga para favorecer macrófagos tipo M2 anti-inflamatórios; um composto sendo capaz de aumentar a polarização de macrófago quando aumenta secreção do marcador de fenótipo CD200R por macrófagos como comparado a um controle; e/ou

iv) testar a capacidade do composto de inibir a ativação e/ou proliferação de células dentríticas.

Figura 1

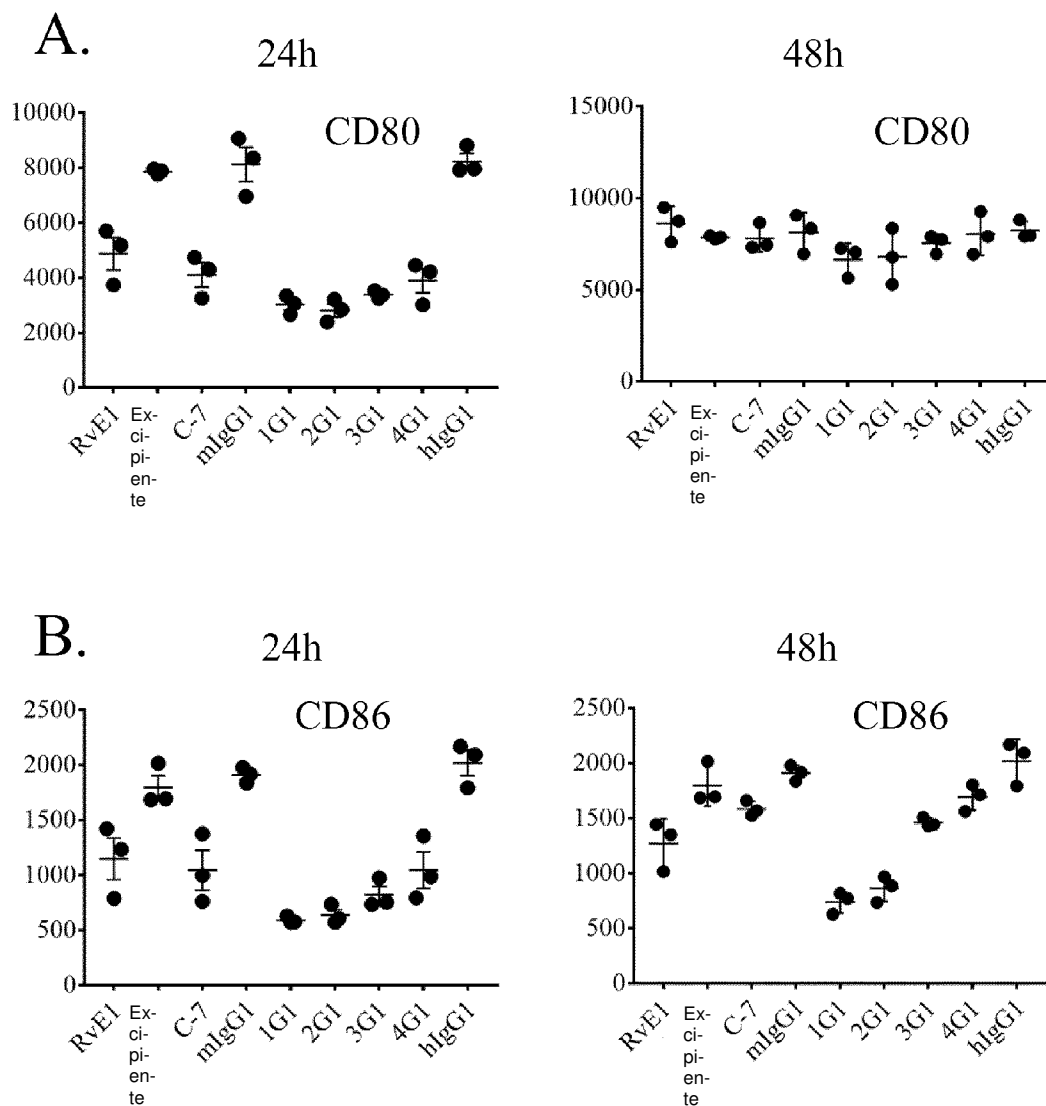


Figura 1 (continuação)

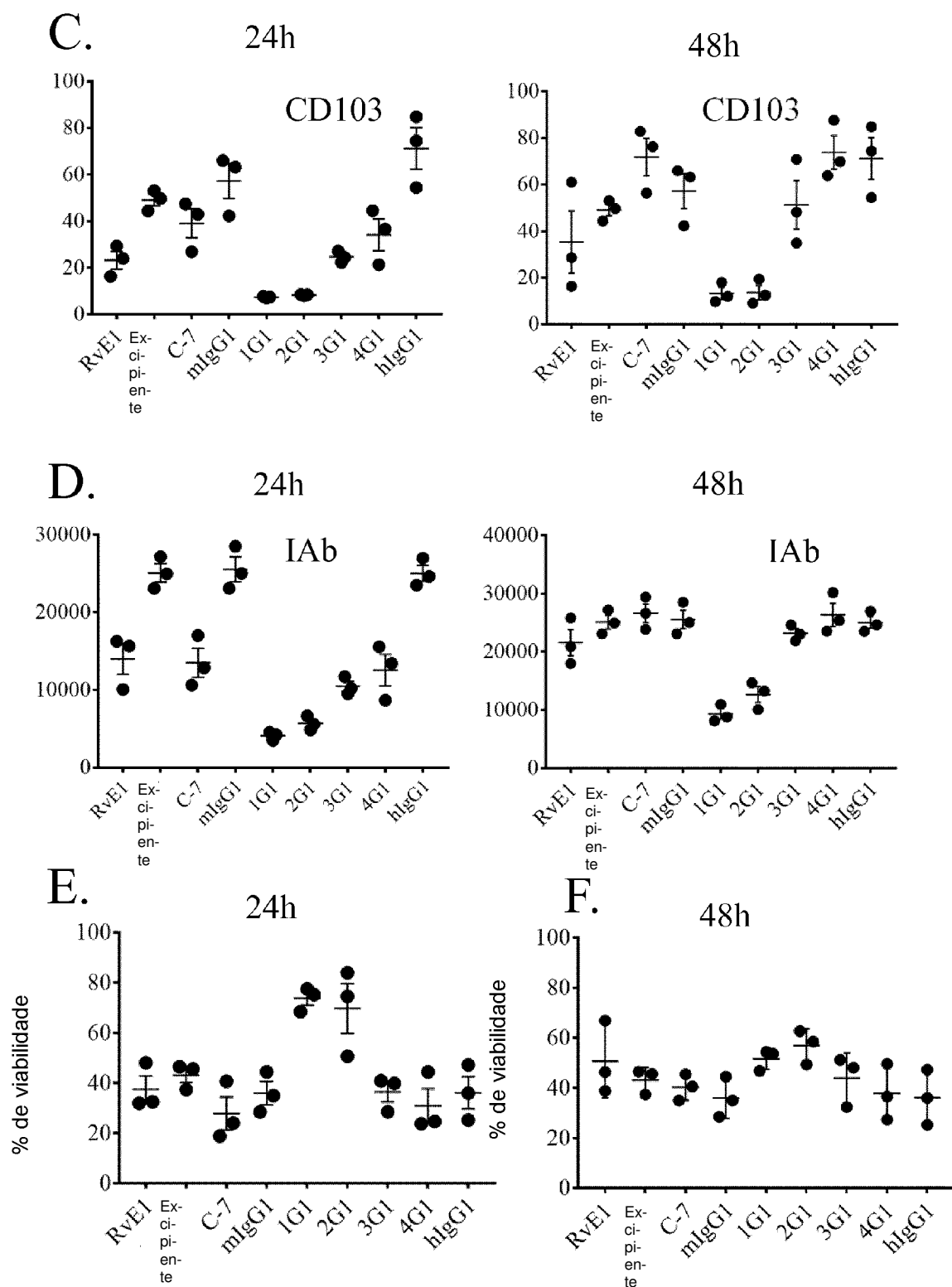
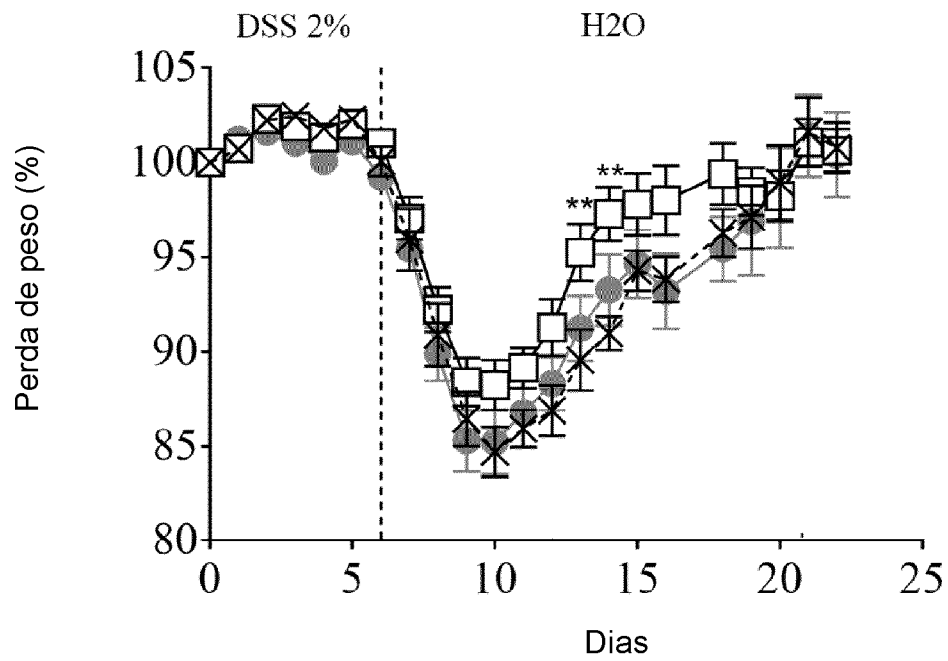


Figura 2

A.



B.

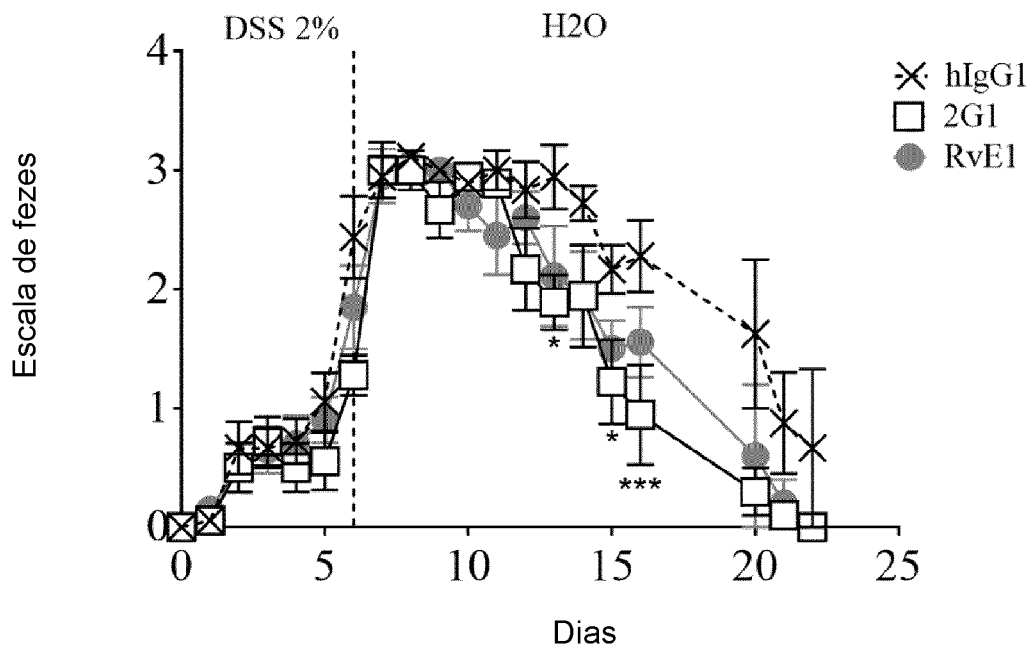
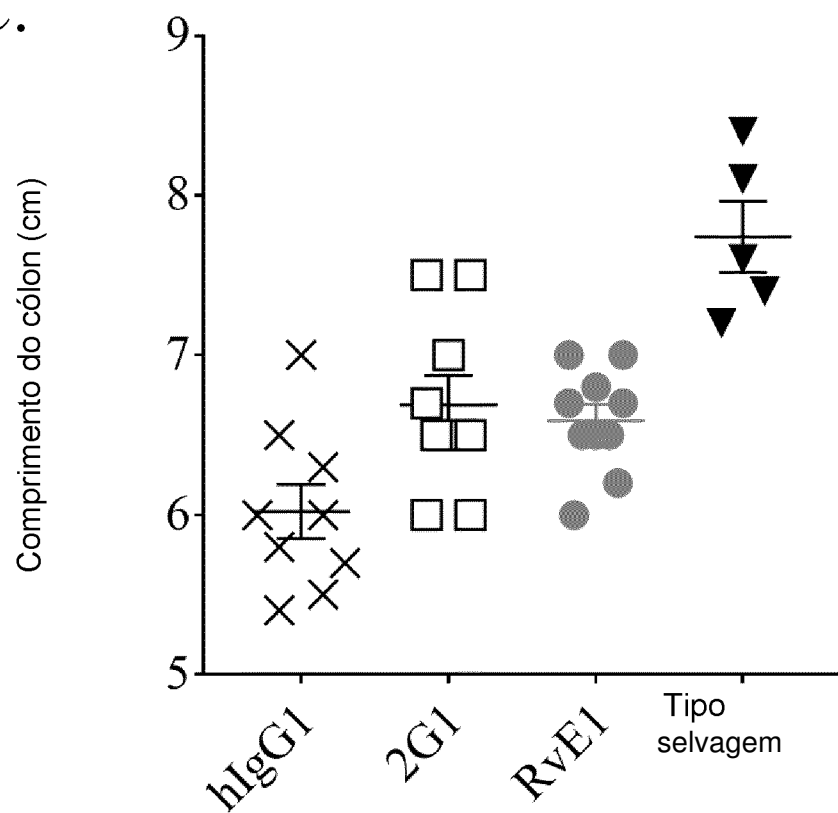


Figura 2 (continuação)

C.



D.

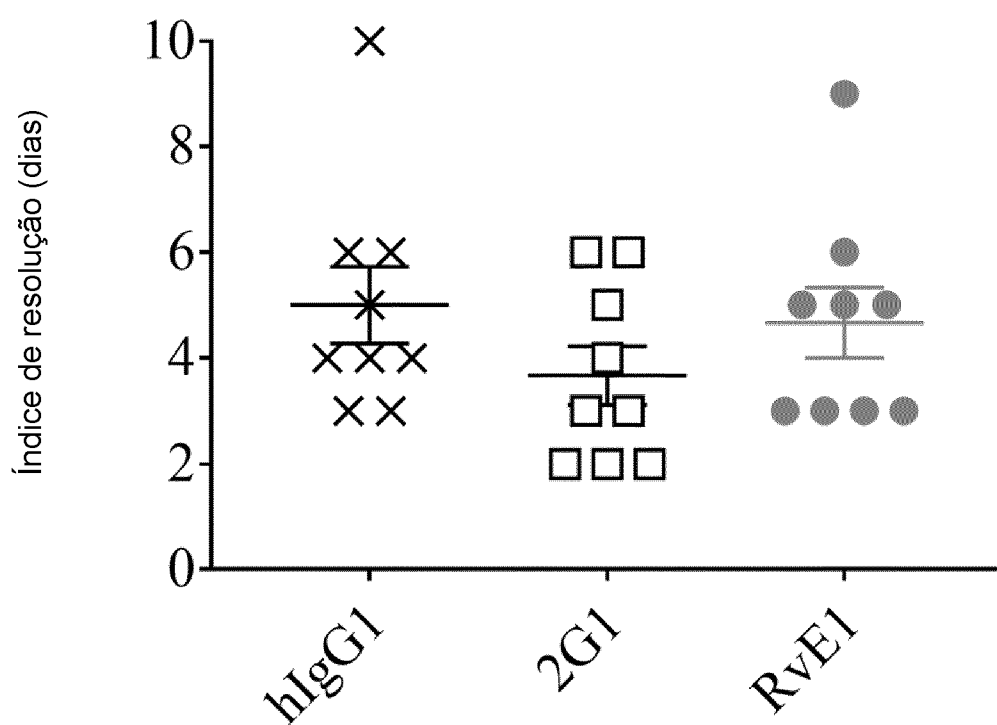


Figura 3

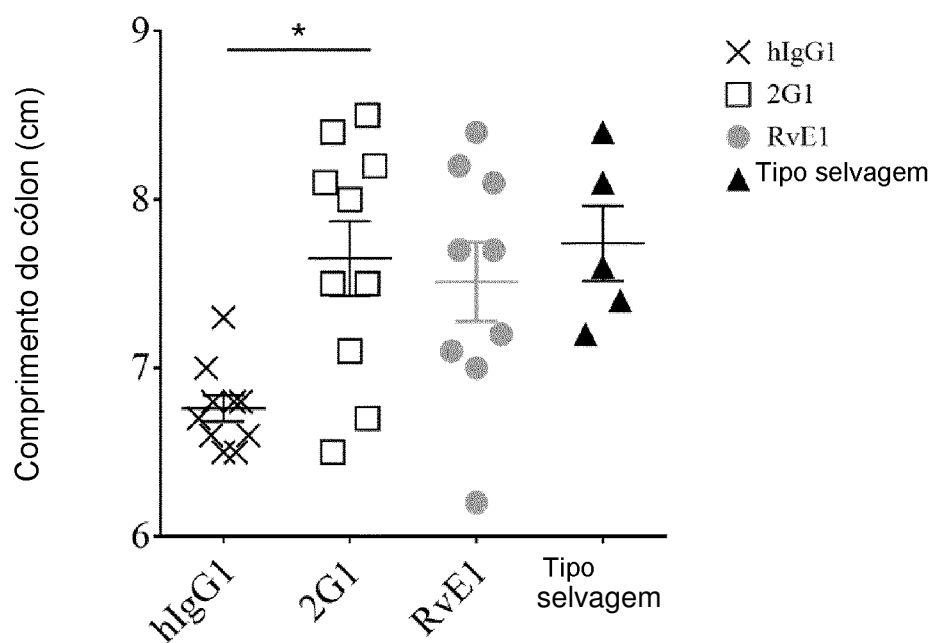


Figura 4

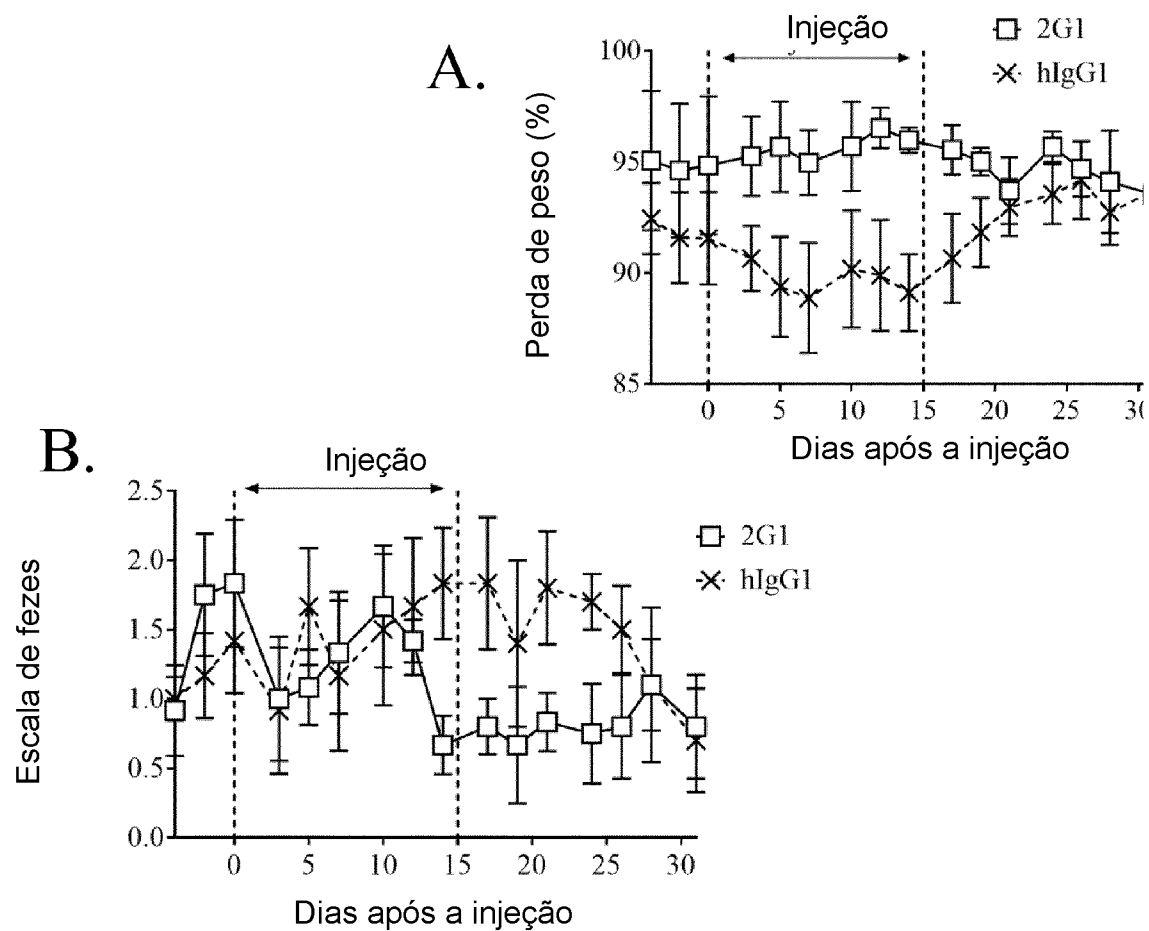


Figura 5

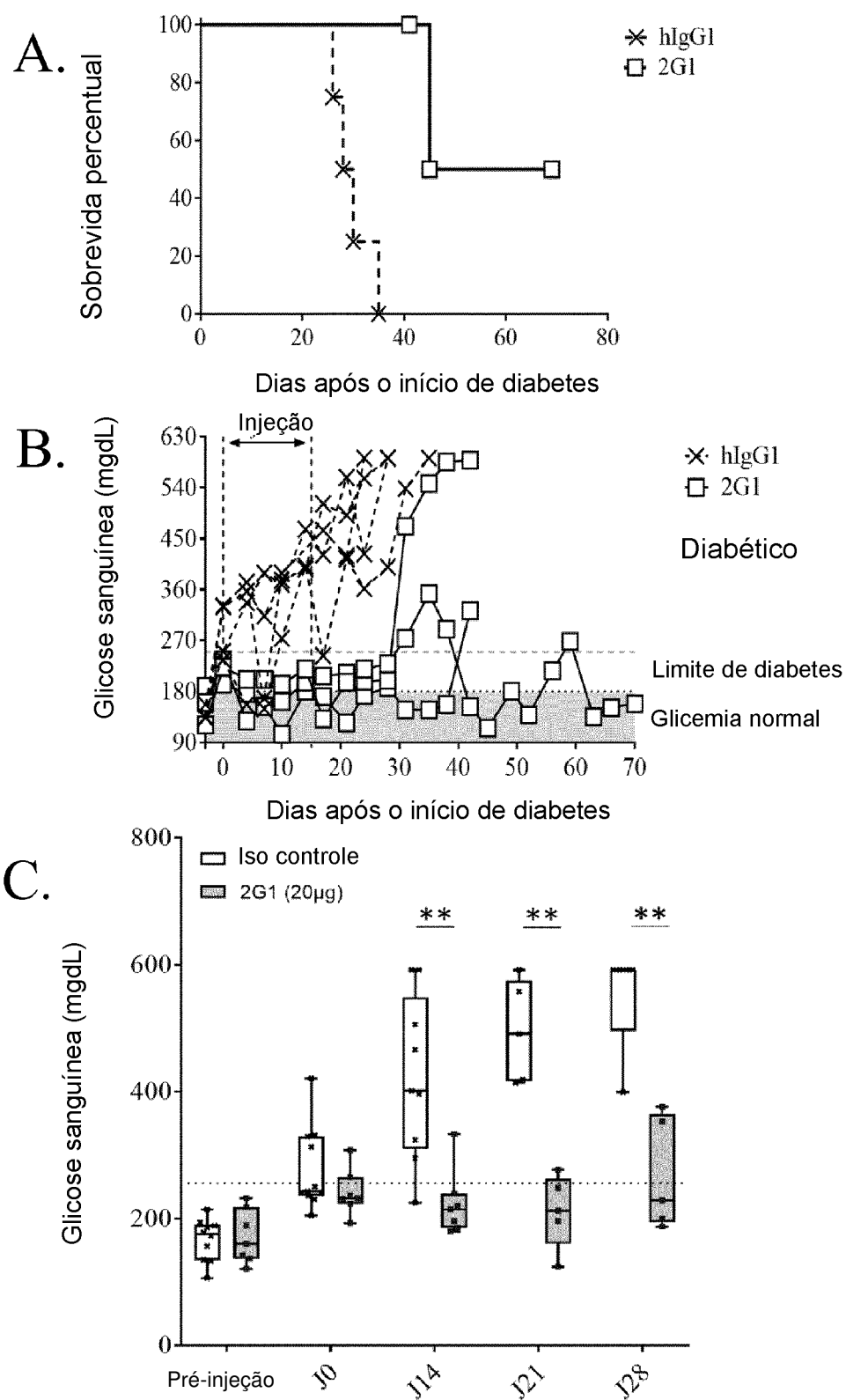


Figura 6

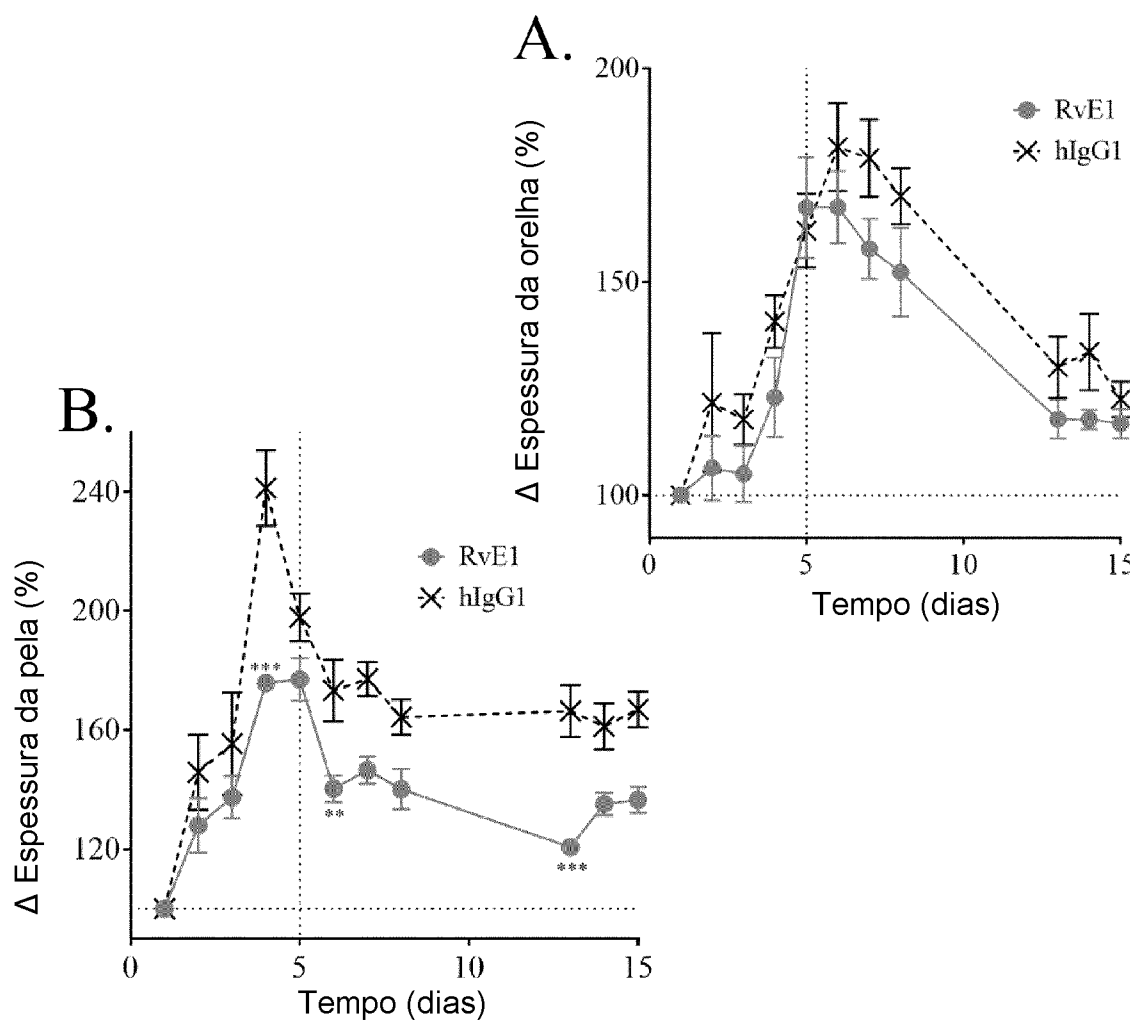


Figura 7

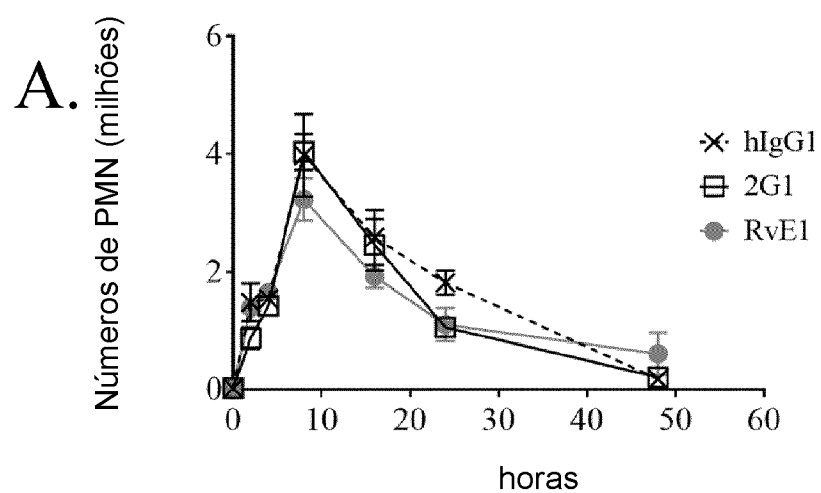


Figura 7 (continuação)

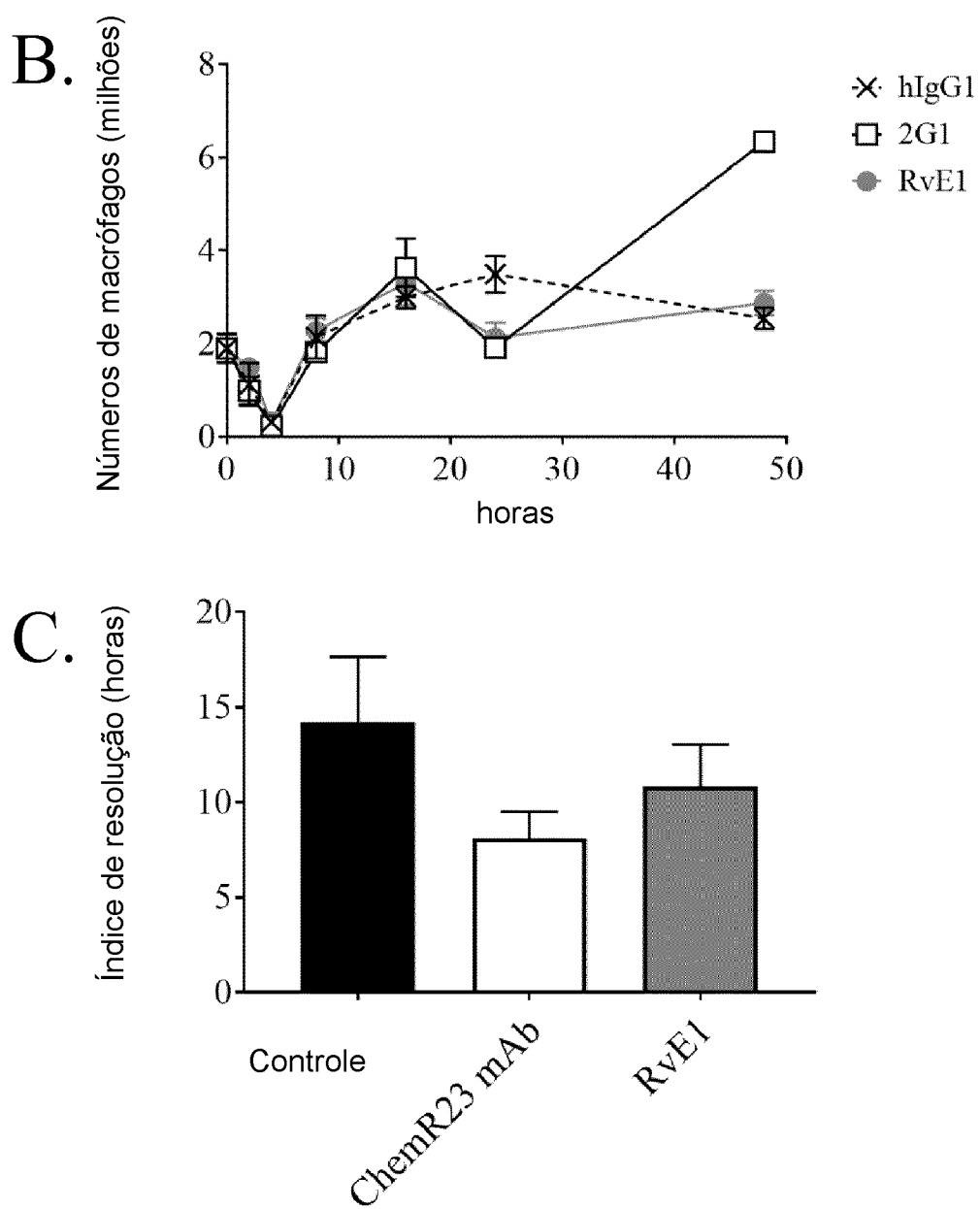
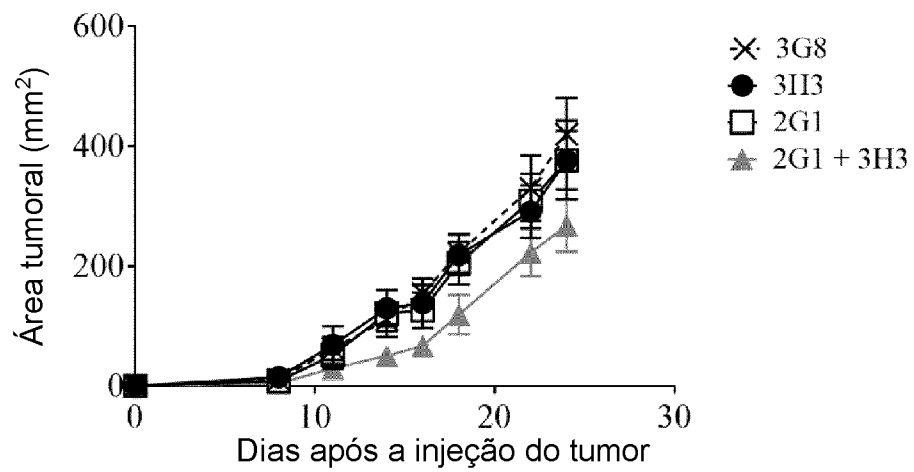


Figura 8

A.



B.

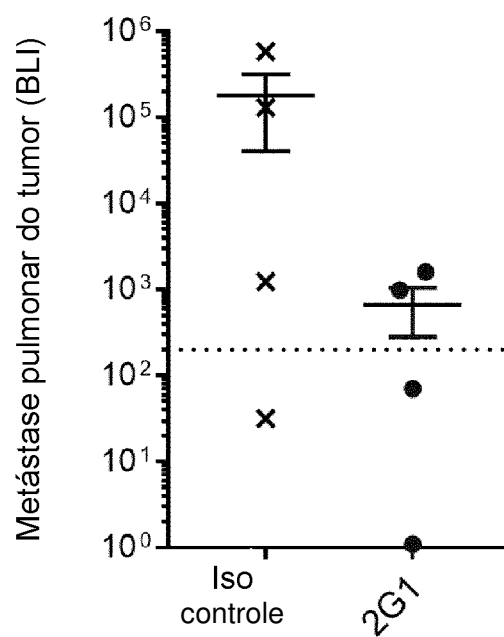


Figura 9

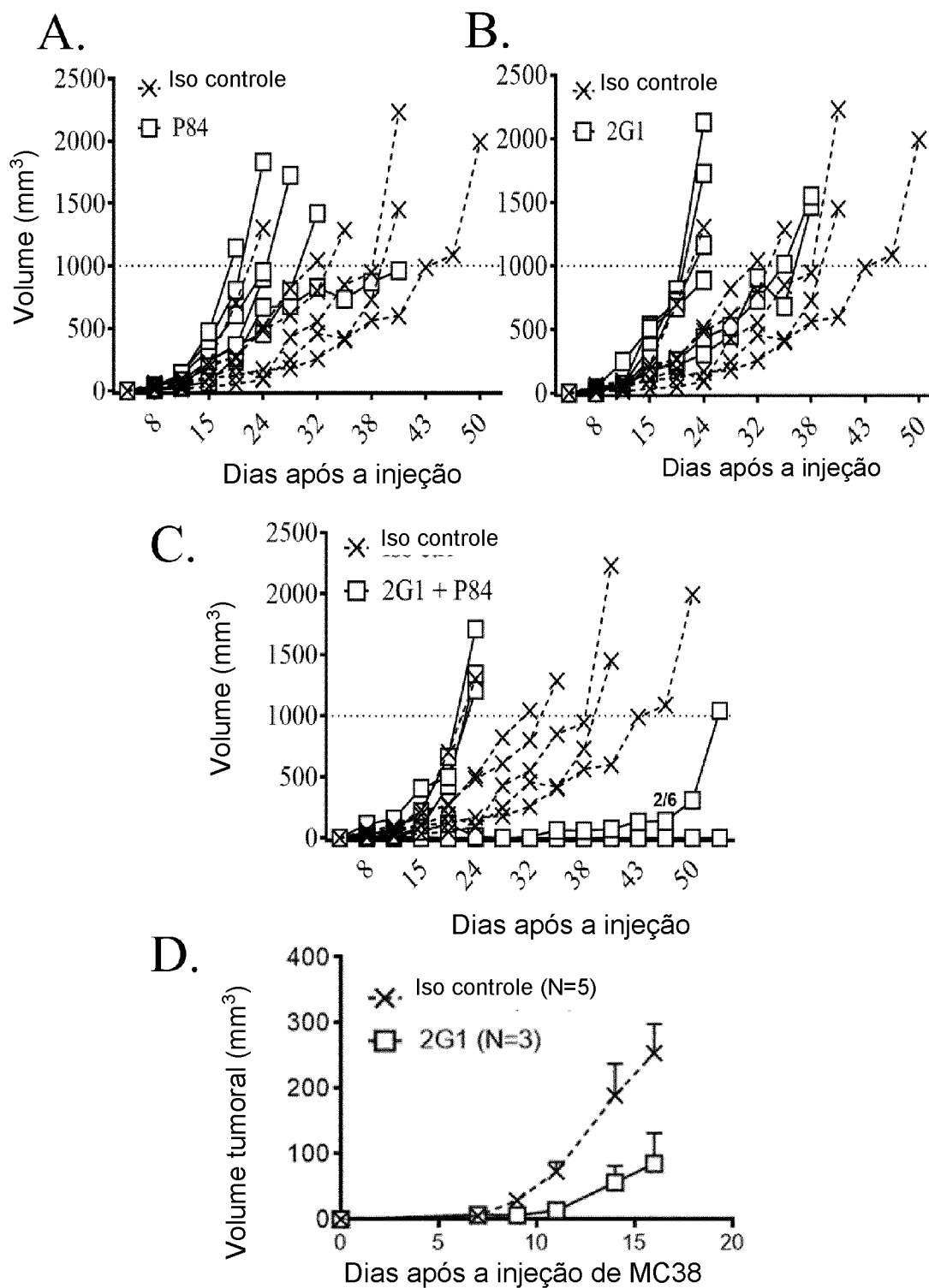


Figura 10

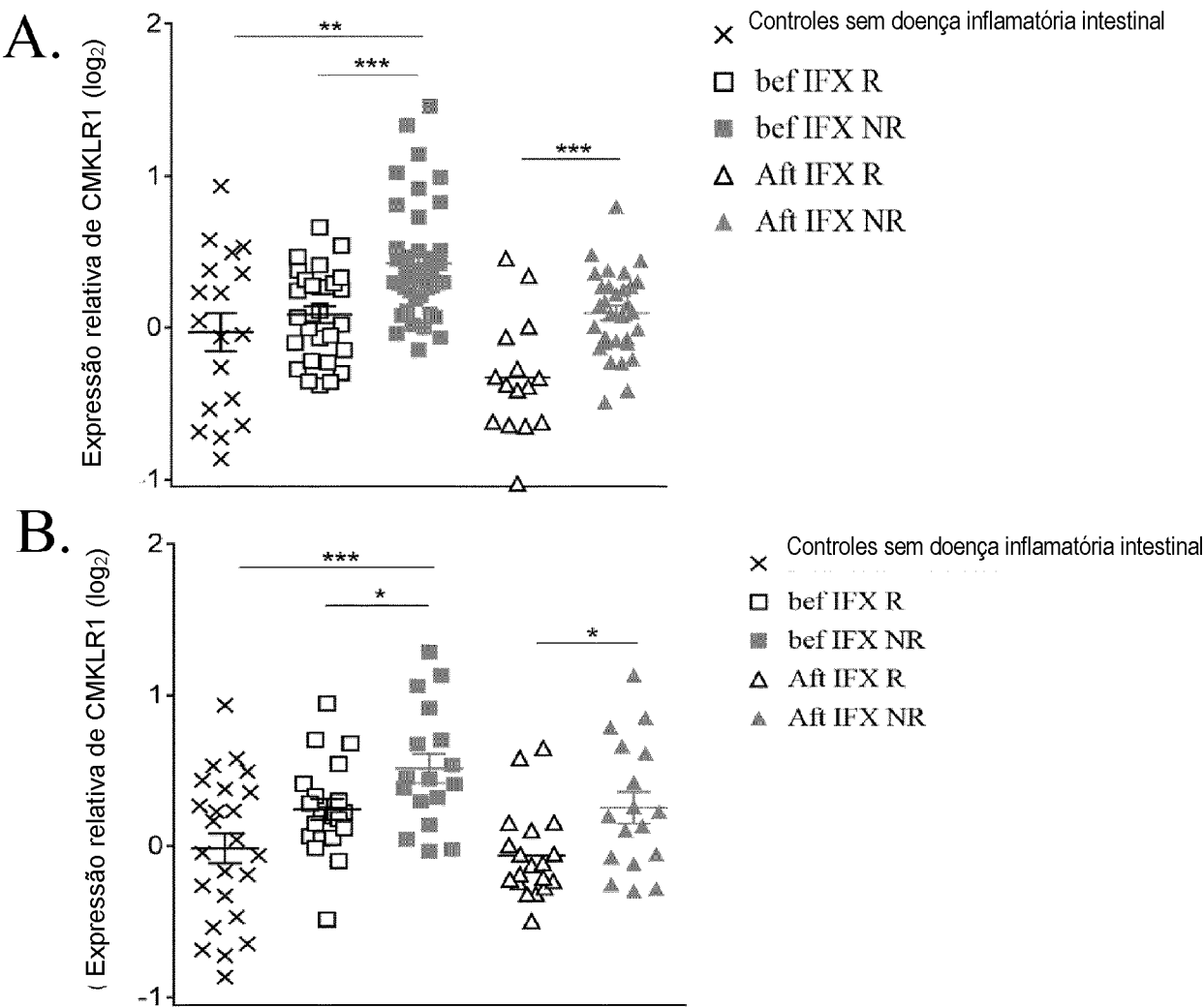


Figura 11

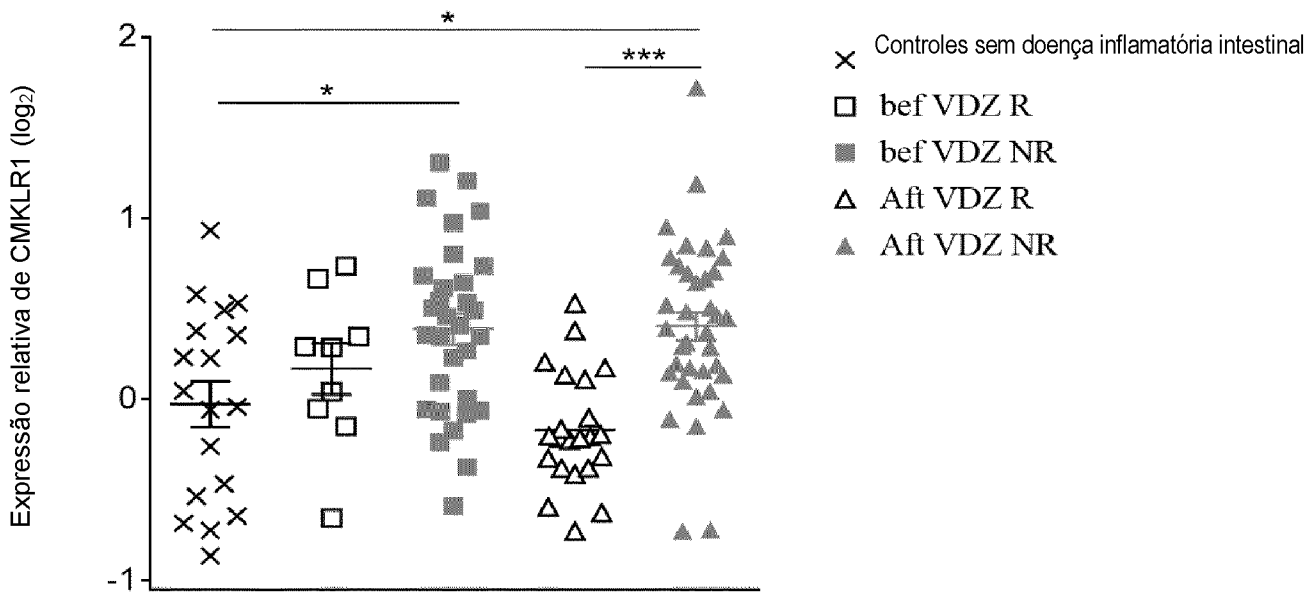


Figura 12

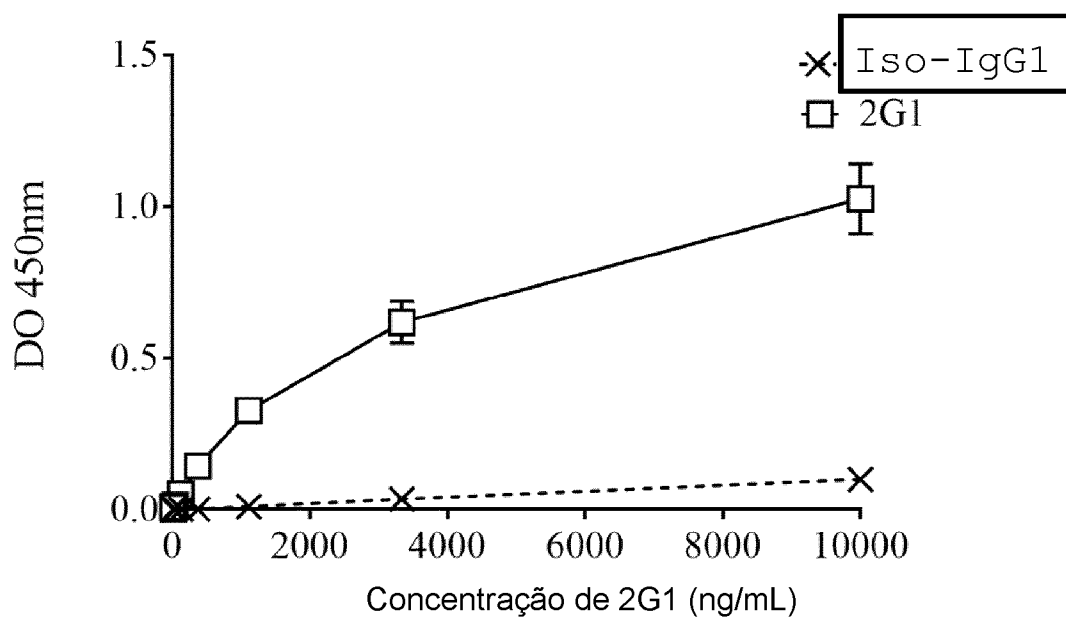
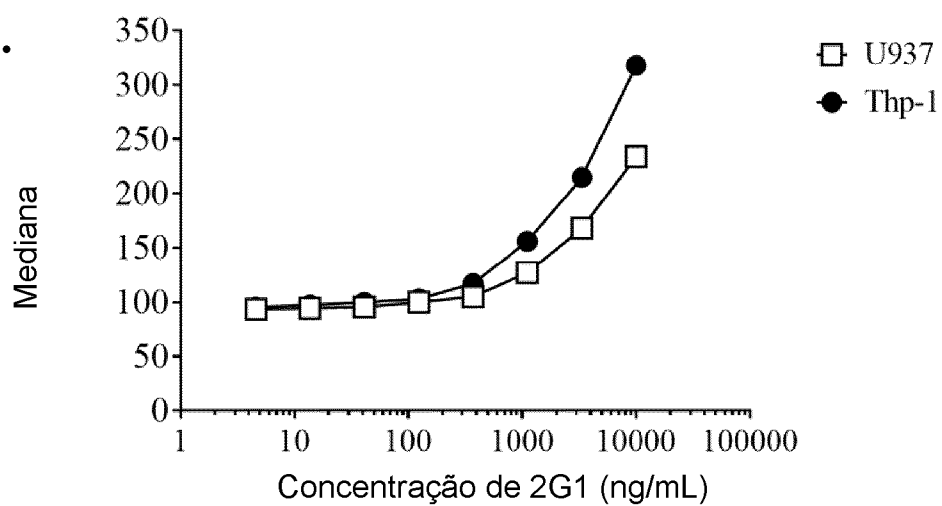


Figura 13

A.



B.

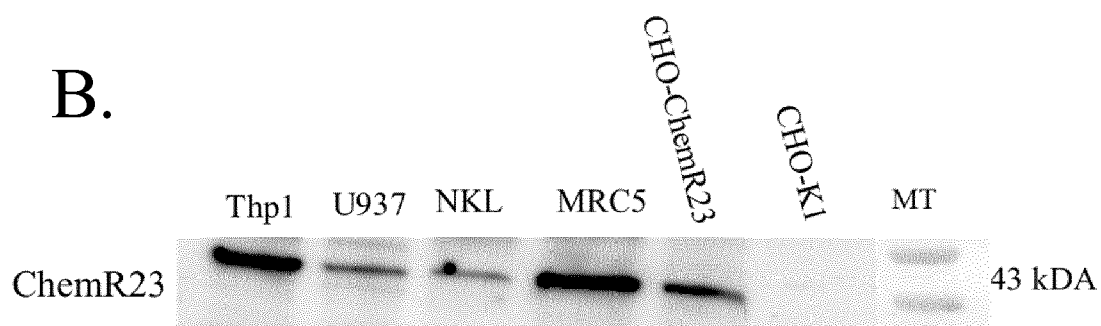


Figura 14

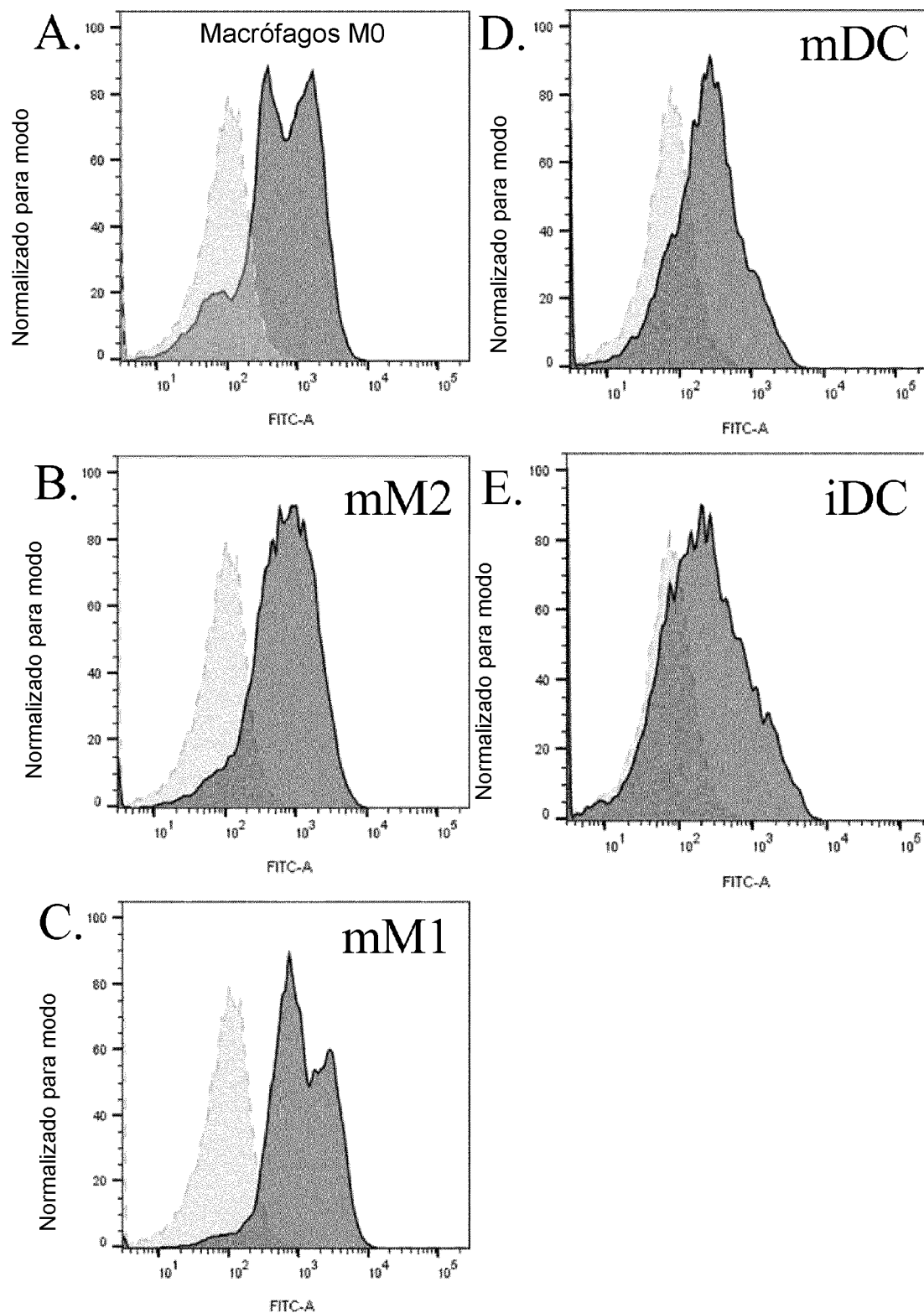


Figura 15

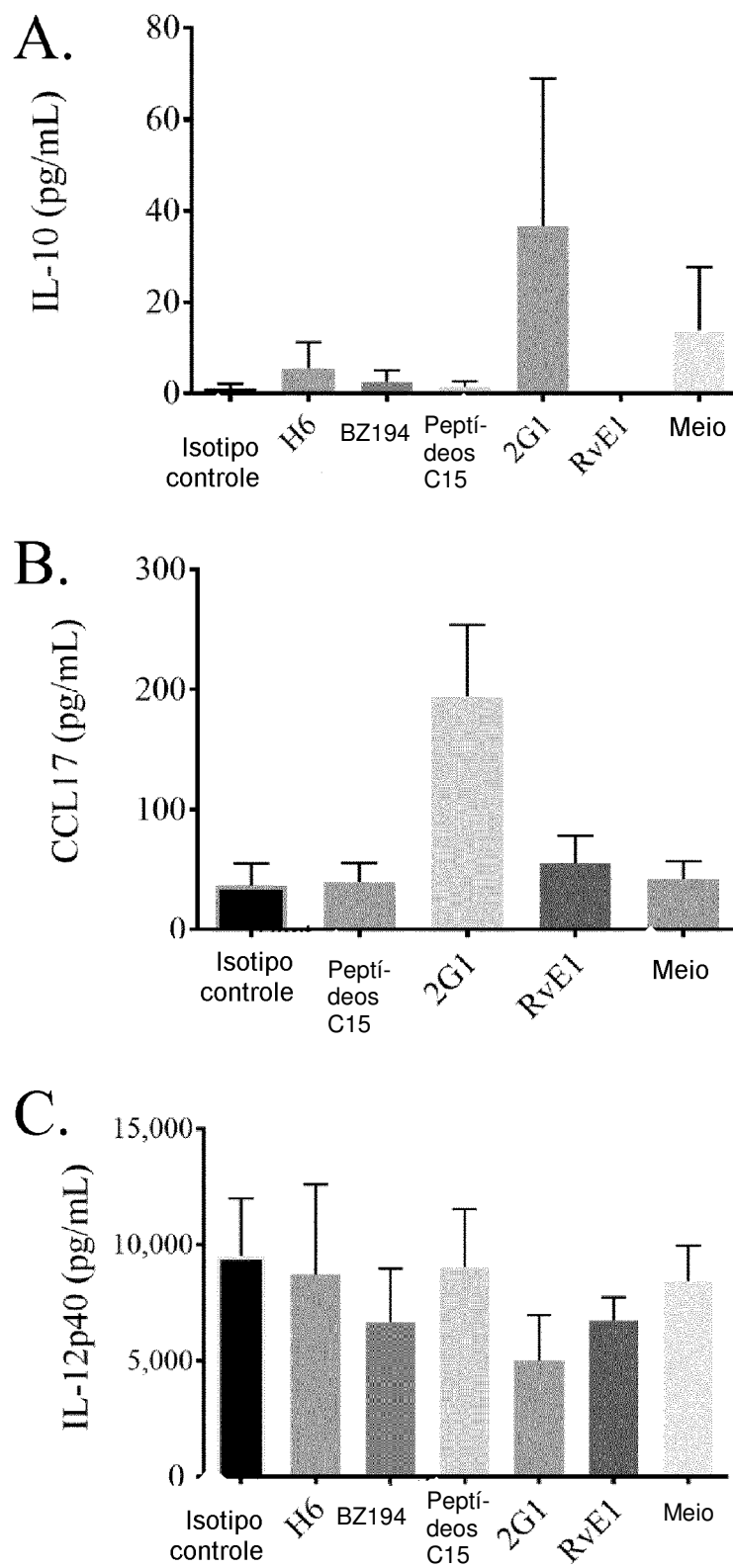


Figura 16

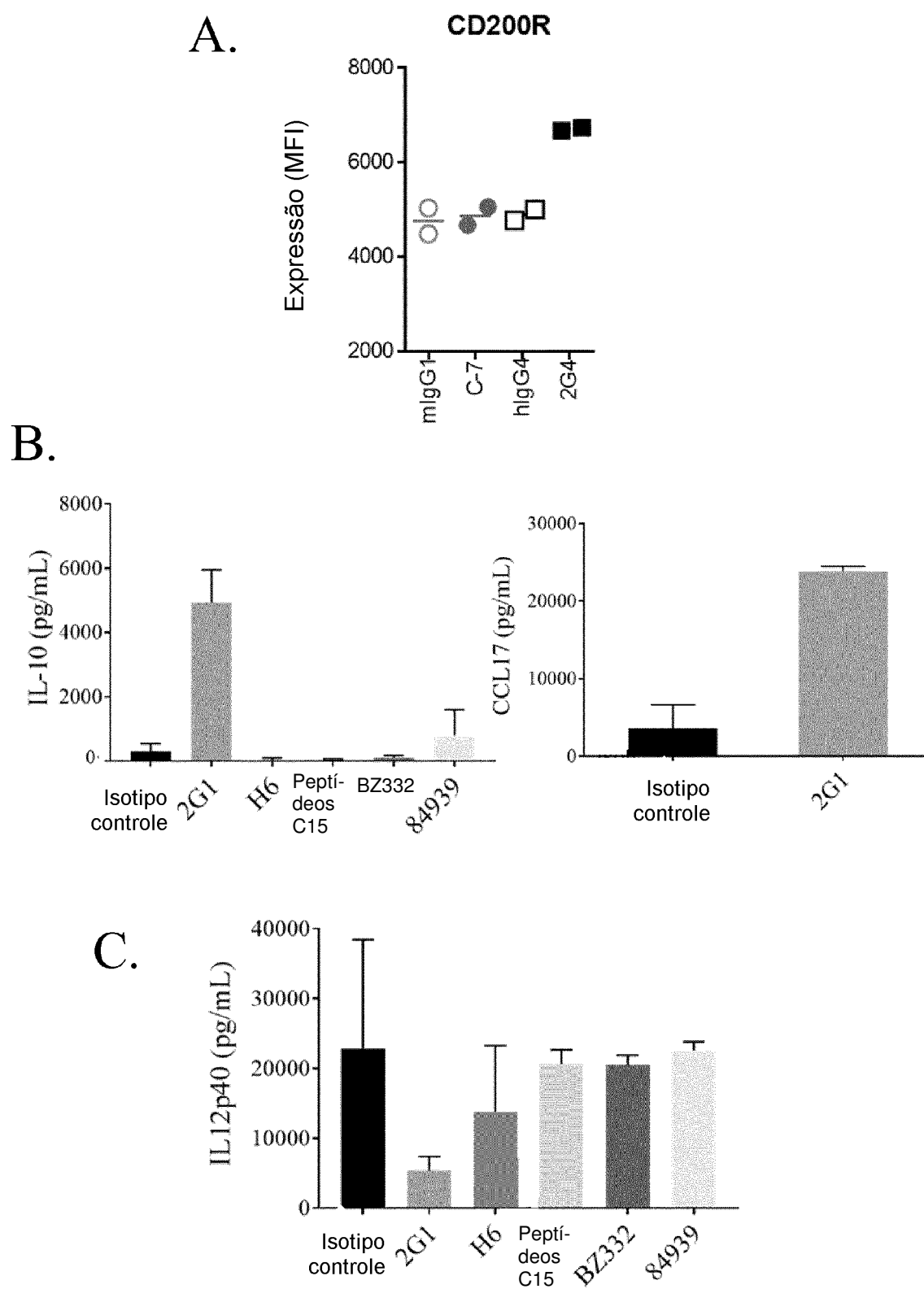


Figura 17

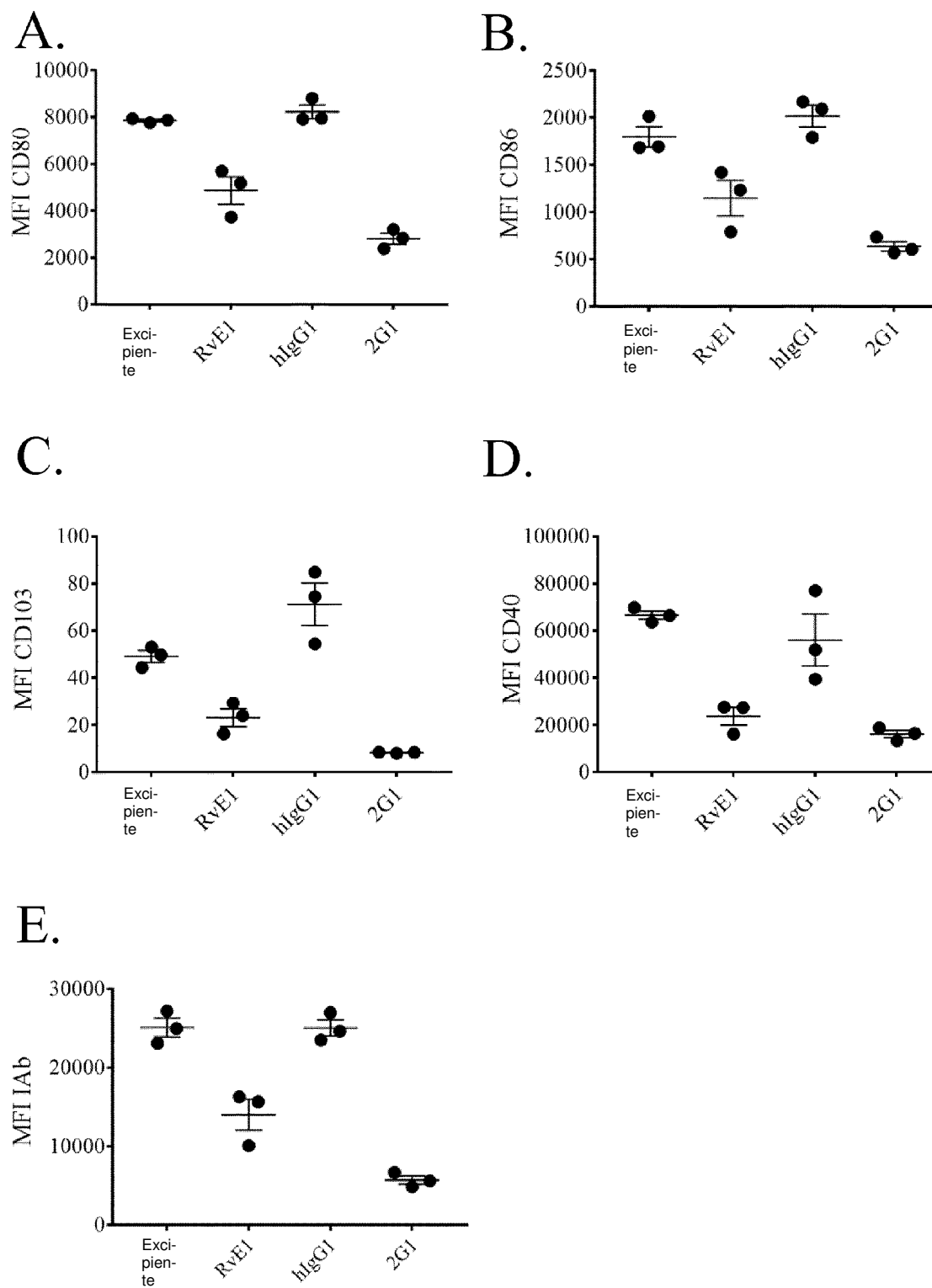


Figura 18

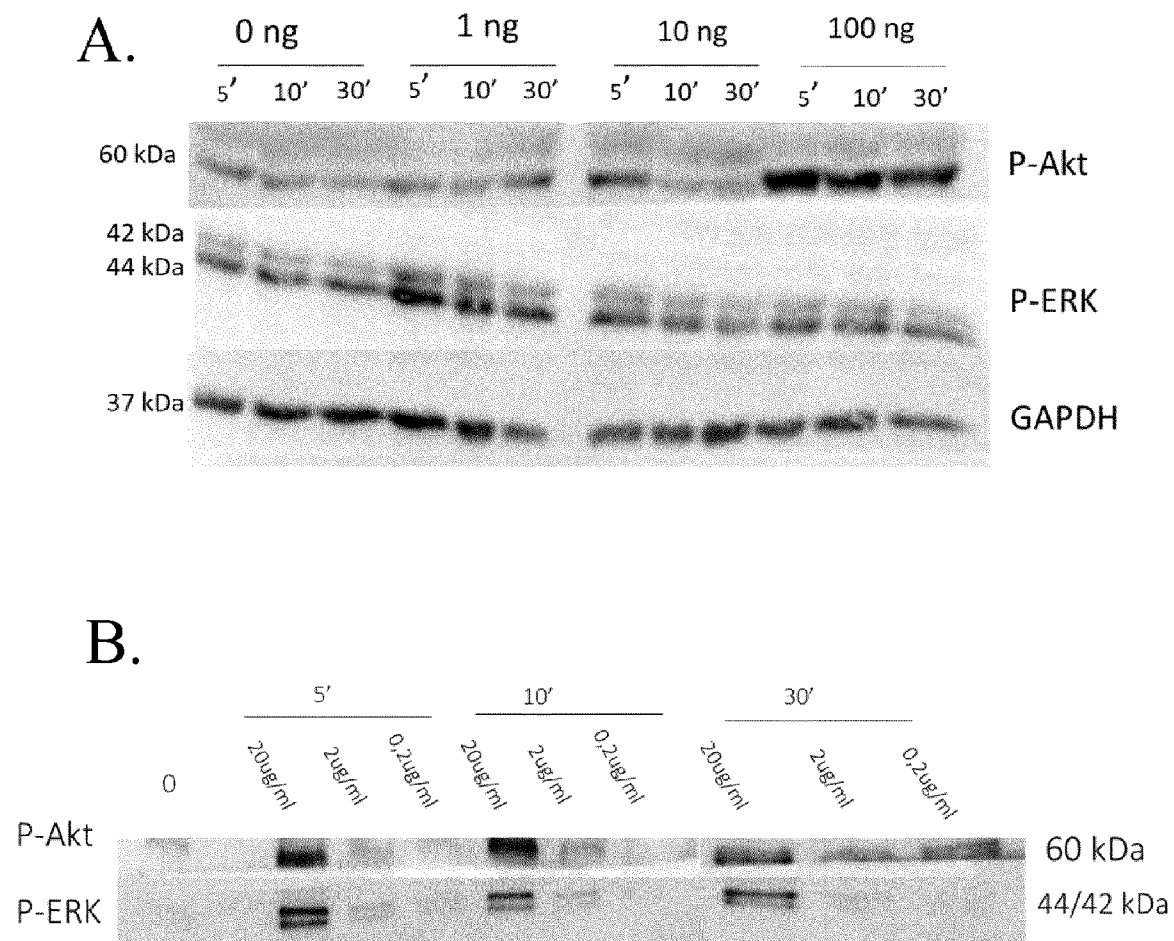


Figura 19

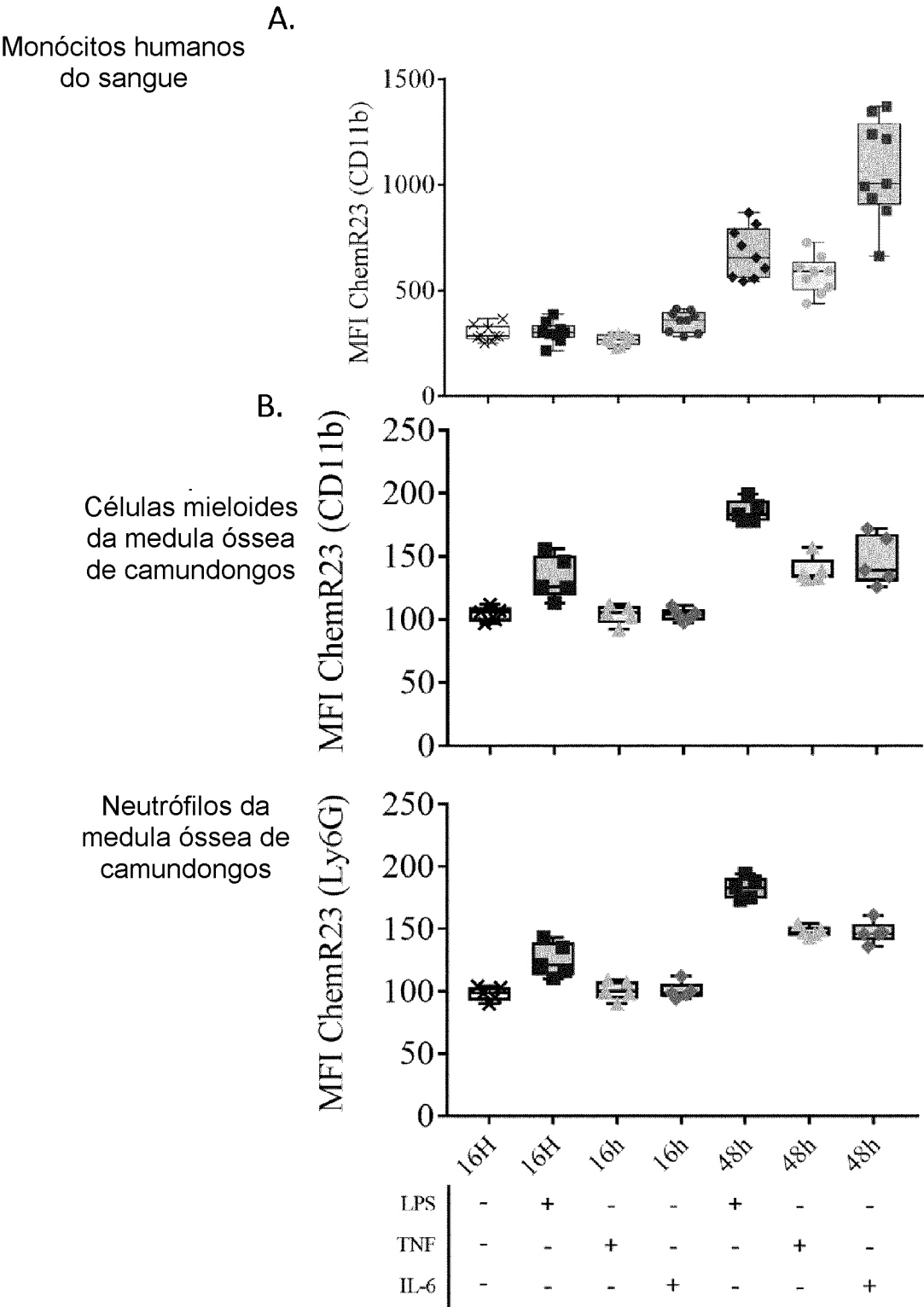
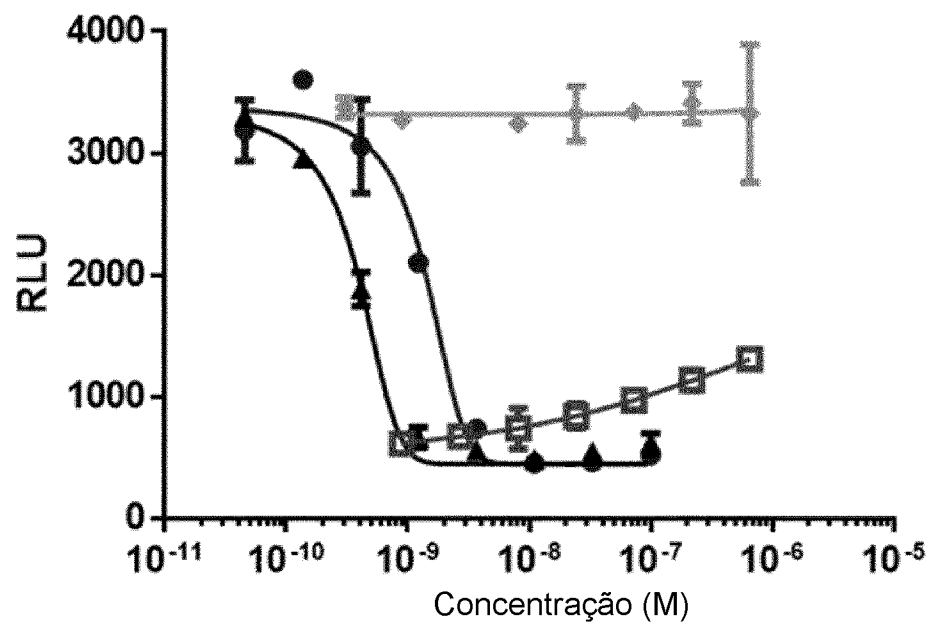


Figura 20

A.



B.

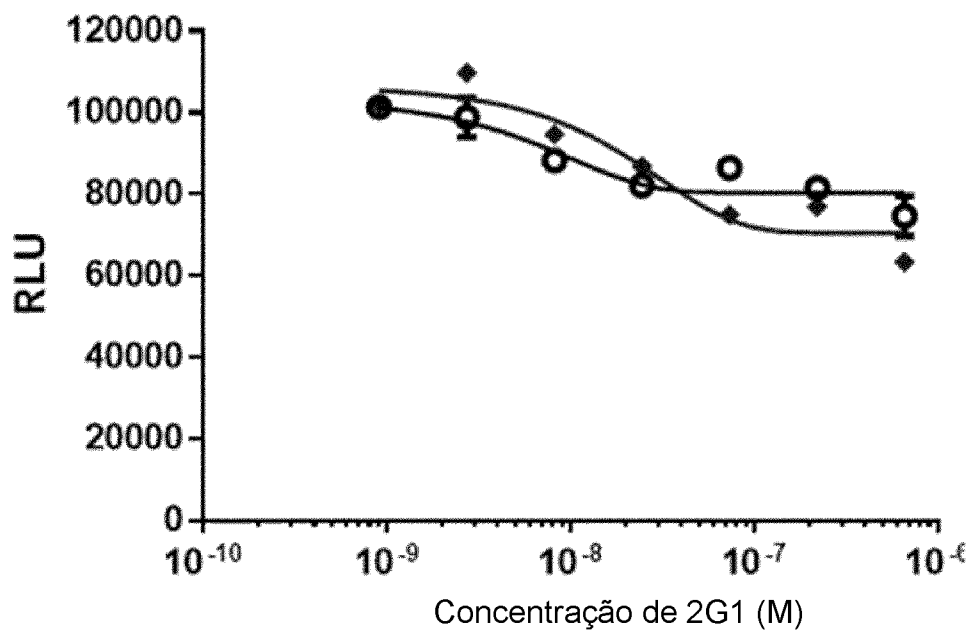


Figura 21

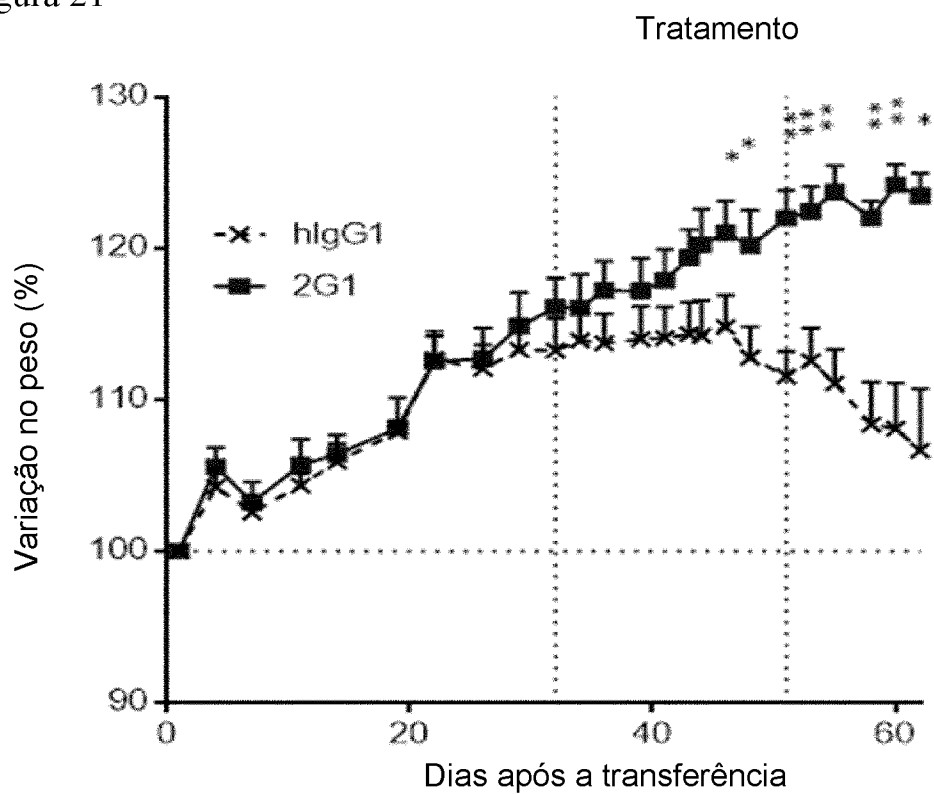
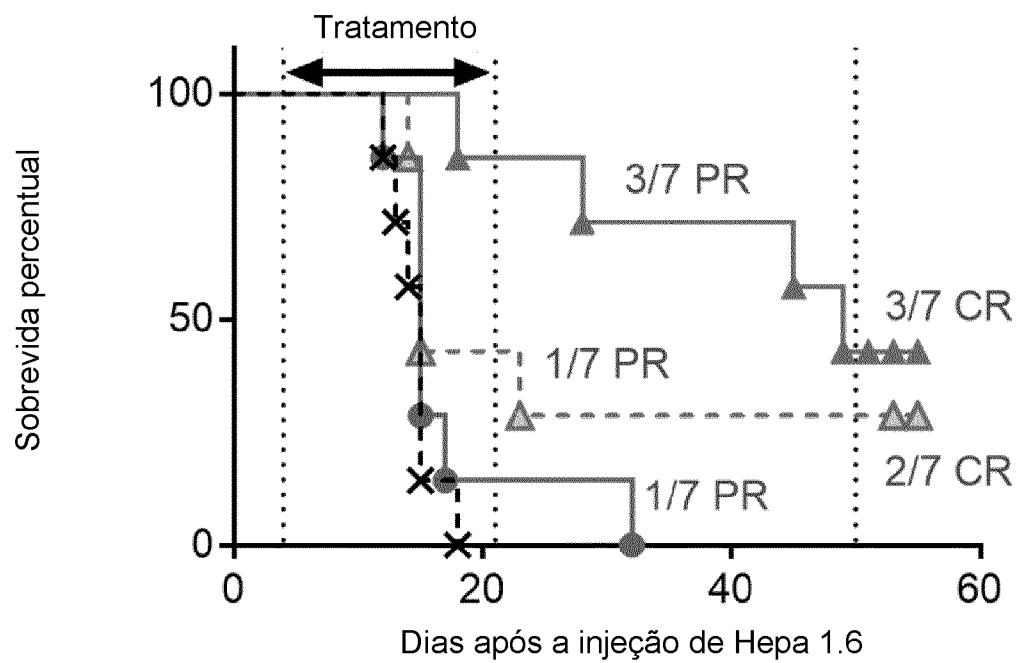


Figura 22



RESUMO

COMPOSTO ANTI-CMKLR1, MOLÉCULA DE ÁCIDO NUCLEICO, VETOR, CÉLULA HOSPEDEIRA, PRODUTO DE COMBINAÇÃO, COMBINAÇÃO DE COMPOSTO, E, MÉTODO PARA SELECIONAR UM COMPOSTO ANTI-CMKLR

A presente invenção provê compostos anti-CMKLR1 com uma capacidade agonista na interação entre Resolvina E1 e CMKLR1, e seus usos para tratar ou prevenir uma doença, em particular em que a resolução ou inflamação é atrasada ou interrompida.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: 40776586.txt
- Data de Geração do Código: 19/11/2020
- Hora de Geração do Código: 11:07:57
- Código de Controle:
 - Campo 1: F926FFFE8998C513
 - Campo 2: BAE54B2CEC3E42D7