



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

(21) BR 112019020335-4 A2



(22) Data do Depósito: 30/03/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 28/04/2020

(54) **Título:** COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA TRATAR SINUCLEINOPATIAS

(51) **Int. Cl.:** C07K 16/18; A61K 39/395; A61P 25/00.

(30) **Prioridade Unionista:** 05/07/2017 US 62/528,790; 31/03/2017 US 62/479,818.

(71) **Depositante(es):** BIOGEN INTERNATIONAL NEUROSCIENCE GMBH.

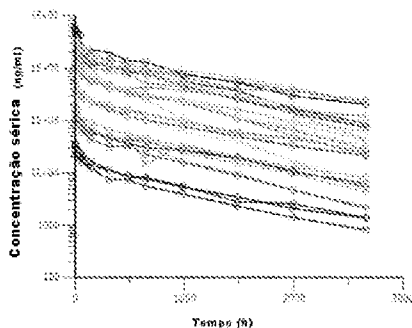
(72) **Inventor(es):** NATASHA PENNER; KUMAR KANDADI MURALIDHARAN.

(86) **Pedido PCT:** PCT IB2018052236 de 30/03/2018

(87) **Publicação PCT:** WO 2018/178950 de 04/10/2018

(85) **Data da Fase Nacional:** 27/09/2019

(57) **Resumo:** Os regimes de dosagem de anticorpos anti-a-sinucleína são fornecidos. Estes regimes de dosagem encontram utilização no tratamento de sinucleinopatias, tais como a doença de Parkinson (DP), doença de Parkinson, demência (PDD), demência com corpos de Lewy (DLB), Lewy variante corpo de doença de Alzheimer (LBVAD), insuficiência autonômica puro (PAF), atrofia de múltiplos sistemas (MSA), e neurodegeneração com acumulação de ferro cérebro tipo-1 (NBIA-I).



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA TRATAMENTO DE SINUCLEINOPATIAS**".

Referência Cruzada a Pedidos Relacionados

[001] Este pedido reivindica o benefício de prioridade do Pedido Provisório U. S. 62/479. 818, depositado em 31 de março de 2017 e Pedido Provisório U. S. 62/528. 790, depositado em 5 de julho de 2017, cujo conteúdo de ambos é incorporado por referência neste documento na sua totalidade.

Campo

[002] O presente pedido refere-se geralmente a regimes de dosagem para o uso clínico de anticorpos anti- $\alpha$ -sinucleína.

Antecedentes

[003] O dobramento incorreto e a agregação de proteínas são aspectos patológicos de inúmeras doenças neurodegenerativas (por exemplo, sinucleinopatias). Os agregados de  $\alpha$ -sinucleína são os principais componentes dos corpos de Lewy e neuritos de Lewy associados à doença de Parkinson (PD). Uma proteína nativamente desdobrada,  $\alpha$ -sinucleína pode adotar diferentes morfologias agregadas, incluindo oligômeros, protofibrilas e fibrilas. Mostrou-se que os agregados oligoméricos pequenos são particularmente tóxicos.

[004] Para tratar o número crescente de pacientes com sinucleinopatias, é necessário um anticorpo terapêutico contra  $\alpha$ -sinucleína e regimes de dosagem apropriados para o uso clínico de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

Sumário

[005] Esta descrição se refere, em parte, a regimes de dosagem de anticorpos para  $\alpha$ -sinucleína ou fragmentos de ligação dos mesmos à  $\alpha$ -sinucleína e seu uso no tratamento de uma sinucleinopatia.

[006] Em um aspecto, é fornecido um método de tratamento de

uma sinucleinopatia em um sujeito humano em necessidade do mesmo. O método envolve a administração intravenosa ao sujeito humano de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína na dose de 3 mg por kg, 5 mg por kg, 15 mg por kg, 45 mg por kg, 90 mg por kg ou 135 mg por kg do peso corporal do sujeito humano. O anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e uma região variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, em que: a VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que: VH-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; VH-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; e VH-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; e a VL compreende VL-CDRs, em que: VL-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; VL-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; e VL-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

[007] Em algumas modalidades deste aspecto, a sinucleinopatia é doença de Parkinson (PD), demência da doença de Parkinson (PDD), demência com corpos de Lewy (DLB), variante de corpo de Lewy da doença de Alzheimer (LBVAD), atrofia de múltiplos sistemas (MSA), falência autonômica pura (PAF) ou neurodegeneração com acúmulo de ferro no cérebro tipo 1 (NBIA-I). Em uma modalidade particular, a sinucleinopatia é doença de Parkinson (PD). Em alguns casos, a PD é PD leve. Em outros casos, a PD é PD moderada.

[008] Em outro aspecto, esta descrição apresenta um método para o tratamento de acumulação ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central em um sujeito humano em necessidade do mesmo. O método inclui a administração intravenosa ao sujeito humano de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína na dose de 3 mg por kg, 5 mg por kg, 15 mg por kg, 45 mg por kg, 90 mg por kg ou 135 mg por kg do peso corporal do sujeito humano. O anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína

compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e uma região variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, em que: a VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que: VH-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; VH-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; e VH-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; e a VL compreende VL-CDRs, em que: VL-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; VL-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; e VL-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

[009] Em algumas modalidades deste aspecto, o sujeito humano foi identificado como tendo acúmulo ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central. Em certos casos, o sujeito humano é identificado por imageamento in vivo de  $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, no cérebro) por um método que compreende tomografia por emissão de pósitrons (PET), tomografia por emissão de fóton único (SPECT), imageamento óptico por infravermelho próximo (NIR), imageamento por ressonância magnética (MRI), imageamento de transportador de dopamina ou ultrassonografia de substância negra. Em outros casos, o sujeito humano é identificado analisando o nível de  $\alpha$ -sinucleína em uma amostra de sangue, plasma ou líquido cefalorraquidiano (CSF) obtida do sujeito após administração periférica ao sujeito do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína e comparando o nível testado de  $\alpha$ -sinucleína no sujeito a um padrão de referência, em que a diferença ou similaridade entre o nível de  $\alpha$ -sinucleína na amostra de sangue, plasma ou CSF e o padrão de referência se correlaciona com o nível de  $\alpha$ -sinucleína no cérebro do sujeito. Em algumas modalidades, o sujeito humano foi identificado por apresentar sintomas de uma sinucleinopatia.

[010] Em algumas modalidades deste aspecto, o sujeito humano está em risco de desenvolver a doença de Parkinson (por exemplo,

devido ao sujeito ter um fator de risco genético, como uma mutação no gene SNCA, LRRK2, Parkin, PINK1, DJ1, ATP13A2, PLA2G6, FBXO7, UCHL1, GIGYF2, HTRA2 ou EIF4G1) ou o sujeito humano possui a doença de Parkinson prodrômica (por exemplo, o sujeito apresenta sintomas ou agrupamentos de sintomas associados ao desenvolvimento futuro da doença de Parkinson, como hiposmia, distúrbio do comportamento REM, dermatose seborreica e/ou certos sintomas autonômicos, incluindo, entre outros, hipotensão ortostática, impotência no sexo masculino e/ou distúrbios do controle da bexiga).

[011] Essas modalidades se aplicam a ambos os aspectos descritos acima. Em certas modalidades, a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8. Em certas modalidades, a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9. Em certas modalidades, a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8 e a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9. Em certas modalidades, o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 humana. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende uma região constante de cadeia leve de lambda humana. Em certas modalidades, o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 humana e uma região constante de cadeia leve de lambda humana. Em ainda outras modalidades, o anticorpo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 10 e a cadeia leve consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO : 11. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é administrado a cada 4 semanas, a cada 3 semanas, a cada 2 semanas ou a cada semana. Em algumas modalidades, 1 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é administrado a cada 4 semanas ou mensalmente. Em algumas modalidades, 3 mg por kg do anticorpo an-

ti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas ou mensalmente. Em algumas modalidades, 5 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas ou mensalmente. Em algumas modalidades, 15 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas ou mensalmente. Em algumas modalidades, 45 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas ou mensalmente. Em algumas modalidades, 90 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas ou mensalmente. Em algumas modalidades, 135 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas ou mensalmente. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 2 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 4 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 6 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 8 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 10 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 12 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades dos regimes de dosagem descritos acima, o sujeito humano recebe o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína por pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ou mais anos.

[012] Em um terceiro aspecto, a descrição fornece uma composição estéril compreendendo uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1050 mg, 1125 mg, 1250 mg, 3150 mg, 3375 mg, 3500 mg, 6300 mg, 6750 mg ou 9450 mg de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína juntamente com um veículo farmacologicamente aceitável. O anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e uma região variável de cadeia leve

(VL) de imunoglobulina, em que: a VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que: VH-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; VH-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; e VH-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; e a VL compreende VL-CDRs, em que: VL-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; VL-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; e VL-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 6. Em alguns casos, as doses fixas são 250 mg, 1250 mg e/ou 3500 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

[013] Em certas modalidades deste aspecto, a composição estéril é fornecida em um frasco. Em outras modalidades, a composição estéril é fornecida em uma seringa ou bomba adaptada para administração intravenosa do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8. Em certas modalidades, a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9. Em certas modalidades, a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8 e a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9. Em certas modalidades, o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 humana. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende uma região constante de cadeia leve de lambda humana. Em certas modalidades, o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 humana e uma região constante de cadeia leve de lambda humana. Em ainda outras modalidades, o anticorpo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 10 e a cadeia leve consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 11. Em certas modalidades, a composição estéril compreende uma dose fixa de 250 mg do

anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em algumas modalidades, a composição estéril compreende uma dose fixa de 1250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em outras modalidades, a composição estéril compreende uma dose fixa de 3500 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

[014] Em um quarto aspecto, é apresentado um método de tratamento de uma sinucleinopatia em um sujeito humano em necessidade do mesmo. O método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano da dose fixa do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína a partir da composição estéril do terceiro aspecto descrito acima.

[015] Em certas modalidades deste aspecto, a sinucleinopatia é demência da doença de Parkinson (PDD), demência com corpos de Lewy (DLB), variante de corpo de Lewy da doença de Alzheimer (LBVAD), atrofia de múltiplos sistemas (MSA), falência autonômica pura (PAF) ou neurodegeneração com acúmulo de ferro no cérebro tipo 1 (NBIA-I). Em uma modalidade particular, a sinucleinopatia é doença de Parkinson. Em certos casos, a PD é PD leve. Em outros casos, a PD é PD moderada. Em algumas modalidades, a dose fixa é de 250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em algumas modalidades, a dose fixa é de 1250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em algumas modalidades, a dose fixa é de 3500 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

[016] Em um quinto aspecto, a descrição refere-se a um método para o tratamento de acumulação ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central em um sujeito humano em necessidade do mesmo. O método envolve a administração intravenosa ao sujeito humano da dose fixa do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína a partir da composição estéril do terceiro aspecto descrito acima.

[017] Em certas modalidades, o sujeito humano foi identificado como tendo acúmulo ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central. Em certos casos, o sujeito humano é identificado por imageamento in vivo de  $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, no cérebro) por um



método que compreende tomografia por emissão de pósitrons (PET), tomografia por emissão de fóton único (SPECT), imageamento óptico por infravermelho próximo (NIR), imageamento por ressonância magnética (MRI), imageamento de transportador de dopamina ou ultrassonografia de substância negra. Em outros casos, o sujeito humano é identificado analisando o nível de  $\alpha$ -sinucleína em uma amostra de sangue ou plasma obtida do sujeito após administração periférica ao sujeito do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína e comparando o nível testado de  $\alpha$ -sinucleína no sujeito a um padrão de referência, em que a diferença ou similaridade entre o nível de  $\alpha$ -sinucleína na amostra de sangue ou plasma e o padrão de referência se correlaciona com o nível de  $\alpha$ -sinucleína no cérebro do sujeito. Em algumas modalidades, a dose fixa é de 250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em algumas modalidades, a dose fixa é de 1250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em algumas modalidades, a dose fixa é de 3500 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

[018] Em algumas modalidades, o sujeito humano está em risco de desenvolver a doença de Parkinson (por exemplo, devido ao sujeito ter um fator de risco genético, como uma mutação no gene SNCA, LRRK2, Parkin, PINK1, DJ1, ATP13A2, PLA2G6, FBXO7, UCHL1, GIGYF2, HTRA2 ou EIF4G1) ou o sujeito humano possui a doença de Parkinson prodrômica (por exemplo, o sujeito apresenta sintomas ou agrupamentos de sintomas associados ao desenvolvimento futuro da doença de Parkinson, como hiposmia, distúrbio do comportamento REM, dermatose seborreica e/ou certos sintomas autonômicos, incluindo, entre outros, hipotensão ortostática, impotência no sexo masculino e/ou distúrbios do controle da bexiga).

[019] Essas modalidades se aplicam aos quarto e quinto aspectos descritos acima. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é administrado a cada 4 semanas, a cada 3 semanas, a cada 2 semanas ou a cada semana. Em algumas modalidades, uma do-

se fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1050 mg, 1125 mg, 1250 mg, 3150 mg, 3375 mg, 3500 mg, 6300 mg, 6750 mg ou 9450 mg é administrado a cada 4 semanas. Em algumas modalidades, uma dose fixa de 250 mg é administrada a cada 4 semanas. Em algumas modalidades, uma dose fixa de 1250 mg é administrada a cada 4 semanas. Em algumas modalidades, uma dose fixa de 3500 mg é administrada a cada 4 semanas. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 2 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 4 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 6 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 8 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 10 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, ao sujeito humano são administradas pelo menos 12 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

[020] Em um sexto aspecto, a descrição fornece um método de tratamento de uma sinucleinopatia em um sujeito humano em necessidade. O método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1050 mg, 1125 mg, 1250 mg, 3150 mg, 3375 mg, 3500 mg, 6300 mg, 6750 mg ou 9450 mg de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. O anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e uma região variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, em que: a VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que: VH-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; VH-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; e VH-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; e a VL com-

preende VL-CDRs, em que: VL-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; VL-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; e VL-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

[021] Em certas modalidades, a sinucleinopatia é demência da doença de Parkinson (PDD), demência com corpos de Lewy (DLB), variante de corpo de Lewy da doença de Alzheimer (LBVAD), atrofia de múltiplos sistemas (MSA), falência autonômica pura (PAF) ou neurodegeneração com acúmulo de ferro no cérebro tipo 1 (NBIA-I). Em uma modalidade particular, a sinucleinopatia é doença de Parkinson (PD). Em alguns casos, a PD é PD leve. Em outros casos, a PD é PD moderada. Em algumas modalidades, o método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em algumas modalidades, o método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 1250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em algumas modalidades, o método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 3500 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

[022] Em um sétimo aspecto, a descrição fornece um método para o tratamento de acumulação ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central em um sujeito humano em necessidade do mesmo. O método envolve a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1050 mg, 1125 mg, 1250 mg, 3150 mg, 3375 mg, 3500 mg, 6300 mg, 6750 mg ou 9450 mg de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. O anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e uma região variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, em que: a VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que: VH-CDR1 consiste

nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; VH-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; e VH-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; e a VL compreende VL-CDRs, em que: VL-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; VL-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; e VL-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

[023] Em algumas modalidades, o sujeito humano é ou foi identificado como tendo acúmulo ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central. Em certos casos, o sujeito humano é identificado por imageamento in vivo de  $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, no cérebro) por um método que compreende tomografia por emissão de pósitrons (PET), tomografia por emissão de fóton único (SPECT), imageamento óptico por infravermelho próximo (NIR), imageamento por ressonância magnética (MRI), imageamento de transportador de dopamina ou ultrassonografia de substância negra. Em outros casos, o sujeito humano é ou foi identificado analisando o nível de  $\alpha$ -sinucleína em uma amostra de sangue ou plasma obtida do sujeito após administração periférica ao sujeito do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína e comparando o nível testado de  $\alpha$ -sinucleína no sujeito a um padrão de referência, em que a diferença ou similaridade entre o nível de  $\alpha$ -sinucleína na amostra de sangue ou plasma e o padrão de referência se correlaciona com o nível de  $\alpha$ -sinucleína no cérebro do sujeito.

[024] Em algumas modalidades, o sujeito humano está em risco de desenvolver a doença de Parkinson (por exemplo, devido ao sujeito ter um fator de risco genético, como uma mutação no gene SNCA, LRRK2, Parkin, PINK1, DJ1, ATP13A2, PLA2G6, FBXO7, UCHL1, GIGYF2, HTRA2 ou EIF4G1) ou o sujeito humano possui a doença de Parkinson prodrômica (por exemplo, o sujeito apresenta sintomas ou agrupamentos de sintomas associados ao desenvolvimento futuro da

doença de Parkinson, como hiposmia, distúrbio do comportamento REM, dermatose seborreica e/ou certos sintomas autonômicos, incluindo, entre outros, hipotensão ortostática, impotência no sexo masculino e/ou distúrbios do controle da bexiga). Em algumas modalidades, o método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em algumas modalidades, o método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 1250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína. Em algumas modalidades, o método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 3500 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

[025] Essas modalidades se aplicam aos sexto e sétimo aspectos descritos acima. Em certas modalidades, a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8. Em certas modalidades, a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9. Em certas modalidades, a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8 e a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9. Em certas modalidades, o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 humana. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende uma região constante de cadeia leve de lambda humana. Em certas modalidades, o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 humana e uma região constante de cadeia leve de lambda humana. Em ainda outras modalidades, o anticorpo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 10 e a cadeia leve consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 11. Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é administrado mensalmente, a cada 4 semanas, a cada 3 semanas, a cada 2 semanas ou a cada semana.

[026] Salvo definição em contrário, todos os termos técnicos e científicos utilizados neste documento têm o mesmo significado como comumente entendido por uma pessoa de conhecimento comum na técnica à qual esta invenção pertence. Embora métodos e materiais semelhantes ou equivalentes aos descritos aqui possam ser utilizados na prática ou na testagem da presente invenção, os métodos e materiais exemplificativos são descritos abaixo. Todas as publicações, pedidos de patentes, patentes e outras referências mencionadas neste documento estão incorporadas para referência em suas totalidades. Em caso de conflito, o presente pedido, incluindo definições, irá prevalecer. Os materiais, métodos e exemplos são ilustrativos apenas, e não são destinados a ser um fator limitante.

[027] Outras características e vantagens da invenção ficarão aparentes a partir da seguinte descrição detalhada, bem como das reivindicações.

#### Breve Descrição dos Desenhos

[028] A Fig. 1 é um gráfico que representa a concentração sérica (ng/ml) de BIIIB054 em sujeitos humanos individuais. Cada curva neste gráfico corresponde a um sujeito humano diferente.

[029] A Fig. 2 é um gráfico que mostra os perfis séricos médios calculados para pacientes em cada nível de dose nos horários indicados. A curva mais distante do eixo x corresponde a 135 mg/kg; a próxima a 90 mg/kg; a próxima a 45 mg/kg; a próxima a 15 mg/kg; a próxima a 5 mg/kg; e a curva mais próxima do eixo x a 1 mg/kg.

[030] A Fig. 3 é um gráfico que mostra a dependência da dose (na faixa de doses de 1 a 135 mg/kg) da AUC.

[031] A Fig. 4 é um gráfico que mostra a dependência da dose (na faixa de doses de 1 a 135 mg/kg) de C<sub>max</sub>.

[032] A Fig. 5 é um gráfico que mostra uma faixa de resposta à dose para a concentração de BIIIB054 no fluido intersticial (ISF) versus

a porcentagem de ligação ao alvo de  $\alpha$ -sinucleína.

[033] A Fig. 6 é um gráfico que mostra as concentrações no CSF versus o tempo para as doses de 3, 15 e 45 mg/kg.

[034] A Fig. 7 é um gráfico que mostra perfis simulados de concentração-tempo no CSF para três doses.

#### Descrição Detalhada

[035] Esta descrição apresenta regimes de dosagem de anticorpos anti- $\alpha$ -sinucleína e fragmentos de ligação  $\alpha$ -sinucleína dos mesmos e seu uso no tratamento de sinucleinopatias (por exemplo, distúrbios relacionados a agregados de  $\alpha$ -sinucleína, como doença de Parkinson (PD), Demência da Doença de Parkinson) (PDD), demência com corpos de Lewy (DLB), variante de corpo de Lewy da doença de Alzheimer (AD), falência autonômica pura (PAF), atrofia de múltiplos sistemas (MSA) e neurodegeneração com acúmulo de ferro no cérebro tipo 1 (NBIA-I)).

#### $\alpha$ -sinucleína

[036] As sinucleínas são proteínas pequenas, solúveis, expressas primariamente no tecido neural e em determinados tumores. A família inclui três proteínas conhecidas:  $\alpha$ -sinucleína,  $\beta$ -sinucleína e  $\gamma$ -sinucleína. Todas as sinucleínas têm em comum um motivo de ligação a lipídeos  $\alpha$ -helicoidal altamente conservado com semelhança aos domínios de ligação a lipídeos de classe-A2 das apolipoproteínas permutáveis. Os membros da família da sinucleína não são encontrados fora de vertebrados, embora eles tenham alguma semelhança estrutural conservada com proteínas vegetais 'abundantes na embriogênese tardia'. As proteínas  $\alpha$ - e  $\beta$ -sinucleína são encontradas primariamente no tecido cerebral, onde elas são vistas principalmente em terminais pré-sinápticos. A proteína  $\gamma$ -sinucleína é encontrada primariamente no sistema nervoso periférico e na retina, mas sua expressão em tumores de mama é um marcador para a progressão do tumor. As

funções celulares normais não foram determinadas para qualquer uma das proteínas sinucleínas, embora alguns dados sugiram um papel na regulação da estabilidade da membrana e/ou renovação. As mutações na  $\alpha$ -sinucleína estão associadas a raros casos familiares da doença de Parkinson de início precoce, e a proteína se acumula anormalmente na doença de Parkinson, na doença de Alzheimer e várias outras doenças neurodegenerativas.

[037] A  $\alpha$ -sinucleína foi originalmente identificada no cérebro humano como a proteína precursora do componente não  $\beta$ -amiloide de (NAC) das placas da doença de Alzheimer (AD); ver, por exemplo, Ueda et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (1993), 1282-1286. A  $\alpha$ -sinucleína, também denominada precursora do componente não A $\beta$  de AD amiloide (NACP), é uma proteína de 140 aminoácidos. A  $\alpha$ -sinucleína existe em sua forma nativa como uma bobina aleatória; no entanto, alterações no pH, aglomeração molecular, teor de metais pesados e níveis de dopamina afetam a conformação de proteínas. Acredita-se que as alterações na conformação para frações oligoméricas, protofibrilares, fibrilares e agregadas regulam a toxicidade da proteína. Uma evidência crescente indica que a  $\alpha$ -sinucleína aduzida pela dopamina tem um curso de tempo mais rápido para a formação de fibrila comparado à proteína não aduzida. Além disso, a dopamina no fundo da superexpressão da  $\alpha$ -sinucleína é tóxica.

[038] Neste relatório descritivo, o termo " $\alpha$ -sinucleína" é usado para se referir coletivamente a todos os tipos e formas de  $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, a forma monomérica nativa de  $\alpha$ -sinucleína, outros conformadores de  $\alpha$ -sinucleína, por exemplo,  $\alpha$ -sinucleína ligado a dopamina-quinona (DAQ) e oligômeros ou agregados de  $\alpha$ -sinucleína).

[039] A sequência proteica da  $\alpha$ -sinucleína humana é fornecida abaixo:

MDVFMKGLSKAKEGVVAAAEKTKQGVAEAAGKTKEGVLYVGSKTKE



GVVHGVATVAEKTKEQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGSIAAAT  
 GFVKKDQLGKNEEGAPQEGILEDMPVDPDNEAYEMPSEEGYQDYE  
 PEA (SEQ ID NO:12). Ver, por exemplo, Ueda et al., Ibid.;GenBank  
 swissprot: locus SYUA\_HUMAN, número de acesso P37840.

#### Anticorpos anti- $\alpha$ -sinucleína

[040] O anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína usado nas composições e métodos aqui descritos se ligam à  $\alpha$ -sinucleína, mas não à  $\beta$ -sinucleína e/ou  $\gamma$ -sinucleína. Assim, embora as proteínas  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -sinucleína sejam proteínas altamente homólogas, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou os fragmentos de ligação à  $\alpha$ -sinucleína aqui descritos são específicos para  $\alpha$ -sinucleína. Estes anticorpos ligam uma região N-terminal da  $\alpha$ -sinucleína. Especificamente, esses anticorpos se ligam a um epítopo dentro dos aminoácidos 4-15 da SEQ ID NO:12 (isto é, FMKGLSKAKEGV (SEQ ID NO: 13) e a lisina na posição 10 na SEQ ID NO: 12 desempenha um papel significativo na especificidade dos anticorpos aqui divulgados para a  $\alpha$ -sinucleína sobre as proteínas  $\beta$ - e  $\gamma$ -sinucleína. Além disso, os anticorpos aqui divulgados se ligam preferencialmente a agregados patológicos da  $\alpha$ -sinucleína humana, como oligômeros e fibrilas da  $\alpha$ -sinucleína humana sobre os monômeros fisiológicos da  $\alpha$ -sinucleína humana. Em certos casos, esses anticorpos podem se ligar com alta afinidade às formas mutantes A30P, E46K e A53T da  $\alpha$ -sinucleína humana.

[041] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína usado nas composições e métodos aqui descritos compreende as três regiões determinantes de complementaridade (CDRs) de domínio variável de cadeia pesada de um anticorpo referido como B1B054.

[042] B1B054 é um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína exemplificativo que pode ser usado nas composições e métodos aqui descritos.

BIIB054 é um anticorpo monoclonal IgG1/ $\lambda$  totalmente humano identificado e clonado a partir de linfócitos B, obtido sob consentimento informado de uma coorte de idosos saudáveis, com ausência de sinais e sintomas clínicos associados a distúrbios neurológicos ou psiquiátricos. BIIB054 se liga com afinidade sub-nanomolar ao terminal N (aminoácidos 4-10 da SEQ ID NO: 12:Região FMKGLSK (SEQ ID NO: 14)) da  $\alpha$ -sinucleína. A aparente afinidade de ligação é maior para as espécies oligoméricas/fibrilares do que para as espécies monoméricas da  $\alpha$ -sinucleína devido à ligação multivalente. Importante, BIIB054 não se liga a outros membros altamente homólogos da família das sinucleínas, por exemplo,  $\beta$ -sinucleína, que pode ser neuroprotetora. A imunohistoquímica mostra a ligação específica (não direcionada) do BIIB054 aos corpos de Lewy e aos neuritos de Lewy no paciente de Parkinson humano e no tecido cerebral de camundongo transgênico de  $\alpha$ -sinucleína humano. Em camundongos transgênicos que superexpressam a  $\alpha$ -sinucleína, a administração intraperitoneal de BIIB054 resulta em níveis mensuráveis de drogas no cérebro, avaliados por métodos imuno-histológicos e bioquímicos, mostrando que o BIIB054 atravessa a barreira hematoencefálica.

[043] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende as três CDRs de domínio variável de cadeia leve de BIIB054. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende as três CDRs de domínio variável de cadeia pesada de BIIB054. Em ainda outras modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende as três CDRs de domínio variável de cadeia pesada e as três CDRs de domínio variável de cadeia leve de BIIB054. As CDRs podem ser baseadas em qualquer definição de CDR na técnica, por exemplo, nas definições de Kabat, Chothia, Chothia da

Abysis, Chothia / AbM aprimorada ou com base na definição de contato. As sequências CDR de B1B054 são fornecidas na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1: Sequências das CDRs de B1B054

Domínio	Sequência de Aminoácidos
VH CDR1	KAWMS (SEQ ID NO: 1) ou GFD FEKAWMS (SEQ ID NO: 7)
VH CDR2	RIKSTADGGTTSYAAPVEG (SEQ ID NO:2)
VH CDR3	AH (SEQ ID NO:3)
VL CDR1	SGEALPMQFAH (SEQ ID NO:4)
VL CDR2	KDSERPS (SEQ ID NO:5)
VL CDR3	QSPDSTNTYEV (SEQ ID NO:6)

[044] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende uma VH CDR1 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida em SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 7, uma VH CDR2 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 2; e uma VH CDR3 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 3. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende uma VL CDR1 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 4, uma VL CDR2 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 5; e uma VL CDR3 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 6.

[045] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende uma VH CDR1 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 7, uma VH CDR2 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 2; e uma VH CDR3 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 3; uma VL

CDR1 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 4, uma VL CDR2 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 5; e uma VL CDR3 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácido estabelecida na SEQ ID NO: 6.

[046] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende ou consiste na cadeia pesada variável (VH) de BIIIB054. A VH de BIIIB054 possui a seguinte sequência de aminoácidos (VH-CDRs sublinhadas):

```
1      EVQLVESGGG LVEFGGSLRL SCAVSGFDFF KAWMSWVRQA PGQGLQWVAR
51     IKSTADGGTT SYAAPVEGRF IISRDDSRNM LYLQMNSLKT EDTAVYYCTS
101    AHWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO:8)
```

[047] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende ou consiste na cadeia leve variável (VL) de BIIIB054. A VL de BIIIB054 possui a seguinte sequência de aminoácidos (VL-CDRs sublinhadas):

```
1      SYELTQPPSV SVSPGQTARI TCSGEALPMQ FAHWYQQRPG KAPVIVVYKD
51     SERPSGVPER FSGSSSGTTA TLITIGVQAE DEADYYCQSP DSTNTYEVFG
101    GGTKLTVL (SEQ ID NO:9)
```

[048] Um anticorpo que consiste na cadeia pesada madura (SEQ ID NO: 10) e na cadeia leve madura (SEQ ID NO: 11) listado abaixo é denominado "BIIIB054" conforme usado neste documento.

Cadeia pesada de BIIIB054 madura (HC):

```
1      EVQLVESGGG LVEFGGSLRL SCAVSGFDFF KAWMSWVRQA PGQGLQWVAR
51     IKSTADGGTT SYAAPVEGRF IISRDDSRNM LYLQMNSLKT EDTAVYYCTS
101    AHWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFFPEPV
151    TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH
201    KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSSVFLFP PKPKDTLMIS
251    RTPETVCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
301    VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
351    REEMTKNQVS LTCLVKGFPY SDIAVEWESN GQPENNYNTT PPVLDSDGSF
401    FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLG PG (SEQ ID
NO:10)
```

Cadeia leve de BIIIB054 madura (LC):

```

1      SYELTQPPSV SVSPGQTARI TCSGEALPMQ FAHWYQQRPG KAPVIVVYKD
51     SERFSGVPER FSGSSEGTTA TLTITGVQAE DEADYYCQSF DSTNTYEVFG
101    GGTKLTVLSQ PKAAFSVTLF PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAN
151    KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE
201    GSTVEKTVAP TECS (SEQ ID NO:11)

```

[049] Nas sequências VH, VL, HC e LC listadas acima, estão sublinhadas as CDRs 1, 2 e 3 com base na definição de Kabat. A sequência em *itálico* e em **negrito** na VH e HC é a sequência N-terminal adicional encontrada na CDR1 com base na definição aprimorada de Chothia / AbM.

[050] Em certas modalidades dos métodos e composições aqui divulgados, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende uma VH com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8. Em certas modalidades dos métodos e composições aqui divulgados, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende uma VL com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9. Em certas modalidades dos métodos e composições aqui divulgados, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende uma VH com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8 e uma VL com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9. Em certas modalidades dos métodos e composições aqui divulgados, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende uma cadeia pesada com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 10. Em certas modalidades dos métodos e composições aqui divulgados, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende uma cadeia leve com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 11. Em outras modalidades dos métodos e composições aqui divulgados, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo compreende uma cadeia pesada com a sequên-

cia de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 10 e uma cadeia leve com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 11.

[051] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo se liga seletivamente à  $\alpha$ -sinucleína e compreende um HC que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91% , 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10 ou difere pelo menos em 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas com menos de 40, 30, 20, 15 ou 10 resíduos da SEQ ID NO: 10. Em uma modalidade, as seis CDRs são idênticas às seis CDRs de B1B054 e quaisquer substituições são feitas na região de estrutura.

[052] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo se liga seletivamente à  $\alpha$ -sinucleína e compreende um LC que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91% , 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 11 ou difere pelo menos em 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas com menos de 40, 30, 20, 15 ou 10 resíduos da SEQ ID NO: 11. Em uma modalidade, as seis CDRs são idênticas às seis CDRs de B1B054 e quaisquer substituições são feitas na região de estrutura.

[053] Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é um anticorpo IgG. Em modalidades específicas, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína possui a região constante de cadeia pesada escolhida entre, por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE. Em uma modalidade, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é do isotipo IgG1. Em outra modalidade, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é do isotipo IgG2. Em ainda outra modalidade, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é do isotipo IgG3. Em outras modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína tem uma região constante de cadeia leve escolhida de, por exemplo, uma cadeia leve kappa humana ou lambda humana. Em uma certa modalidade, o anti-

corpo anti- $\alpha$ -sinucleína é um anticorpo de IgG1 / lambda humana.

[054] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é um anticorpo de comprimento total (inteiro) ou substancialmente de comprimento total. A proteína pode incluir pelo menos uma, e de preferência duas, cadeias pesadas completas e pelo menos uma, e preferencialmente duas, cadeias leves completas. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é um fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína. Em alguns casos, o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína é um Fab, um Fab', um F(ab')<sub>2</sub>, um Facb, um Fv, um Fv de cadeia única (scFv), um sc(Fv)<sub>2</sub> ou um diacorpo.

[055] A cadeia pesada e a cadeia leve dos anticorpos aqui divulgados também podem incluir sequências de sinal. As sequências de sinal podem ser selecionadas dentre aquelas conhecidas na técnica, por exemplo, MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC (SEQ ID NO: 15) ou MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC (SEQ ID NO: 16).

[056] Anticorpos, como B1B054, ou fragmentos de ligação à  $\alpha$ -sinucleína dos mesmos podem ser produzidos, por exemplo, preparando e expressando genes sintéticos que codificam as sequências de aminoácidos recitadas ou mutando genes da linhagem germinativa humana para fornecer um gene que codifica as sequências de aminoácidos recitadas. Além disso, este anticorpo e outros anticorpos anti- $\alpha$ -sinucleína podem ser produzidos, por exemplo, usando um ou mais dos seguintes métodos.

#### Métodos de Produção de Anticorpos

[057] Anticorpos anti- $\alpha$ -sinucleína ou fragmentos de ligação à  $\alpha$ -sinucleína podem ser produzidos em células bacterianas ou eucarióticas. Alguns anticorpos, por exemplo, os Fab's podem ser produzidos em células bacterianas, por exemplo, células de E. coli. Os anticorpos também podem ser produzidos em células eucarióticas, como linhagens celulares transformadas (por exemplo, CHO, 293E, COS). Além

disso, os anticorpos (por exemplo, scFv's) podem ser expressos em uma célula de levedura como *Pichia* (ver, por exemplo, Powers et al., *J. Immunol Methods*.251:123-35 (2001)), *Hansenula*, or *Saccharomyces*. Para produzir o anticorpo de interesse, um polinucleotídeo ou polinucleotídeos que codificam o anticorpo é / são construídos, introduzidos em um vetor ou vetores de expressão e depois expressos em células hospedeiras adequadas. Para melhorar a expressão, as sequências nucleotídicas dos genes das cadeias leve e pesada podem ser recodificadas sem alterar (ou mudar minimamente - por exemplo, remoção de um resíduo C-terminal da cadeia pesada ou leve) da sequência de aminoácidos. As áreas para possível recodificação incluem aquelas associadas ao início da tradução, ao uso de códons e à possível junção não planejada do mRNA. Os polinucleotídeos que codificam um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreendendo VH e/ou VL, HC e/ou LC dos anticorpos  $\alpha$ -sinucleína aqui descritos seriam facilmente visualizados pelo versado na técnica.

[058] Uma sequência de DNA exemplificativa que codifica a cadeia leve de B1B054 é fornecida abaixo (os nucleotídeos em letras minúsculas codificam o peptídeo sinal da cadeia leve nativa (que pode ou não ser incluído no construto de ácido nucleico); o terminal N maduro começa com o início do ácido nucleico na posição 67):

```

1  atg gac atg cgg ctg ccc ggc cag ctg ctg ggc ctg ctg ctg ctg tgg acc cct ggc gcc aga tct
67  acc tac gag ctg acc cag ccc ccc acc ctg acc ctg acc ccc gcc cag acc gcc acc acc acc tcc
133  acc gcc gag gcc ctg ccc acc cag ctg ccc cag tgg tac cga cag acc cca gcc acc gcc acc ctg
199  atg ctg ctg tac aaa cag acc gag acc ccc tca ggt ctg cct gag cca ttc tct gcc tcc tcc tcc
265  gcc acc acc gcc acc ttc acc atc acc gga ctg cag cca gaa gat gag cct gcc tct tac tcc cag
331  tct cca gag acc acc acc acc tct gaa ctg ttc gcc gaa gcc acc gag ctg acc ctg ctg acc cag
397  ccc acc gct gcc ccc tcc ctg acc ctg ttc cct ccc tcc tcc gag cca ctt cga gcc acc acc gcc
463  acc ctg ctg tct ctg acc acc gac ttc tac cct gaa gcc ctg acc ctg gcc tgg acc cca ggt acc
529  acc ccc ctg acc gcc gcc acc ctg gag acc acc acc ccc tcc acc cca acc acc acc acc acc acc acc
595  acc acc tac ctg acc ctg acc cct gag cag tgg acc tcc cag acc acc tac acc tcc cag ctg acc
661  cag gaa gcc acc acc ctg gag acc acc acc acc acc acc acc acc acc acc acc acc acc acc acc acc
[SEQ ID NO:17]

```

[059] Uma sequência de DNA exemplificativa que codifica a ca-



deia pesada de BII054 é fornecida abaixo (os nucleotídeos em letras minúsculas codificam o peptídeo sinal da cadeia leve nativa (que pode ou não ser incluído no construto de ácido nucleico); o terminal N maduro começa com o início do ácido nucleico na posição 67):

```

1  atg gac atg agg gta gcc gcc cag ctg ctg ggc ctg ctg ctg ctg tgg ttc gcc ggc tct cgg tgg
67  gac ctg cag ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
133  gca ctg ttc gca ttc gta ttc gaa aaa gcc tgc atg atg tgc ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
199  ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
265  gaa gcc aga ttc atc atc tca aga gta gac ttc aga aac atg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
331  aaa act gaa gac aga gcc ctg tat tat ttt aga tca gcc ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
397  gcc ttc ttt gcc ttc acc aga gcc cca ttc ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
463  gcc gcc aga gcc ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
529  aac tca gcc gcc ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
595  tcc ctg ttt tcc ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
661  att ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
727  aca tcc cca gcc tcc cca cca ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
793  gcc aga gcc ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
859  gaa gac ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
925  cct ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
991  tgg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
1057  att att tcc aaa gcc aaa gcc ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
1123  gaa att att att att att att att att att att att att att att att att att att att att att
1189  ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
1255  gcc gcc ttc ttc ttc ctg tat tcc aaa ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
1321  ttc tca tcc tcc gcc att ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg ctg
1387  ctg ctg tga (SEQ ID NO:18)

```

[060] As técnicas padrões de biologia molecular são usadas para preparar o(s) vetor(es) de expressão recombinante, transfectar as células hospedeiras, selecionar transformantes, cultura de células hospedeiras e recuperar o anticorpo.

[061] Se os anticorpos anti- $\alpha$ -sinucleína ou fragmentos de ligação à  $\alpha$ -sinucleína forem expressos em células bacterianas (por exemplo, *E. coli*), o vetor de expressão deve ter características que permitam a amplificação do vetor nas células bacterianas. Além disso, quando *E. coli* como JM109, DH5 $\alpha$ , HB101 ou XL1-Blue é usada como hospedeiro, o vetor deve ter um promotor, por exemplo, um promotor lacZ

(Ward et al., 341: 544-546 (1989) ), promotor araB (Better et al., Science, 240: 1041-1043 (1988)) ou promotor T7 que pode permitir a expressão eficiente em *E. coli*. Exemplos de tais vetores incluem, por exemplo, vetores da série M13, vetores da série pUC, pBR322, pBluescript, pCR-Script, pGEX-5X-1 (Pharmacia), "sistema QIAexpress" (QIAGEN), pEGFP e pET (quando este vetor de expressão é usado, o hospedeiro é de preferência BL21 expressando RNA polimerase T7). O vetor de expressão pode conter uma sequência de sinal para secreção de anticorpos. Para produção no periplasma de *E. coli*, a sequência de sinal pelB (Lei et al., J. Bacteriol., 169:4379 (1987)) pode ser utilizada como a sequência de sinal para a secreção de anticorpos. Para expressão bacteriana, podem ser utilizados métodos de cloreto de cálcio ou métodos de eletroporação para introduzir o vetor de expressão na célula bacteriana.

[062] Se o anticorpo deve ser expresso em células animais, como células CHO, COS e NIH3T3, o vetor de expressão inclui um promotor necessário para a expressão nessas células, por exemplo, um promotor SV40 (Mulligan et al., Nature, 277: 108 (1979)) (por exemplo, promotor precoce do vírus símio 40), promotor MMLV-LTR, promotor EF1 $\alpha$  (Mizushima et al., Nucleic Acids Res., 18: 5322 (1990)) ou promotor CMV (por exemplo, citomegalovírus humano promotor). Além da sequência de ácido nucleico que codifica a imunoglobulina ou o domínio da mesma, os vetores de expressão recombinantes podem transportar sequências adicionais, como sequências que regulam a replicação do vetor nas células hospedeiras (por exemplo, origens da replicação) e genes marcadores selecionáveis. O gene marcador selecionável facilita a seleção das células hospedeiras nas quais o vetor foi sendo introduzido (ver, por exemplo, Patente U.S. 4.399.216, 4.634.665 e 5.179.017). Por exemplo, normalmente o gene marcador selecionável confere resistência a drogas, tais como G418, higromicina ou metotre-

xato, em uma célula hospedeira, na qual o vetor foi introduzido. Exemplos de vetores com marcadores selecionáveis incluem pMAM, pDR2, pBK-RSV, pBK-CMV, pOPRSV e pOP13.

[063] Em uma modalidade, os anticorpos são produzidos em células de mamíferos. Células hospedeiras de mamíferos exemplificativas para expressar um anticorpo incluem o Ovário de Hamster Chinês (células CHO) (incluindo células dhfr<sup>-</sup> CHO, descritas em Urlaub and Chasin (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, usadas com um marcador selecionável DHFR, por exemplo, conforme descrito em Kaufman e Sharp (1982) Mol. Biol. 159: 601-621), células 293 de rim embrionário humano (por exemplo, 293, 293E, 293T), células COS, células NIH3T3, linhagens de células linfocíticas, por exemplo, células de mieloma NS0 e células SP2 e uma célula de um animal transgênico, por exemplo, um mamífero transgênico. Por exemplo, a célula é uma célula epitelial mamária. Em uma modalidade específica, a célula de mamífero é uma célula CHO-DG441.

[064] Em um sistema exemplificativo para expressão de anticorpos, um vetor de expressão recombinante que codifica a cadeia pesada de anticorpo e a cadeia leve do anticorpo de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, B1B054) é introduzido nas células dhfr<sup>+</sup> CHO por transfecção mediada por fosfato de cálcio. Dentro do vetor de expressão recombinante, os genes de cadeia pesada e leve do anticorpo estão operativamente ligados a elementos regulatórios intensificadores/promotores (por exemplo, derivados de SV40, CMV, adenovírus e semelhantes, como um elemento regulatório intensificador de CMV/promotor de AdMLP ou um elemento regulatório intensificador de SV40/promotor de AdMLP) para conduzir altos níveis de transcrição dos genes. O vetor de expressão recombinante também carrega um gene DHFR, que permite a seleção de células CHO que têm sido transfectadas com o vetor usando seleção/amplificação de metotrexato.

to. As células hospedeiras de transformantes selecionadas são cultivadas para permitir a expressão de cadeias pesadas e leves de anticorpo e o anticorpo é recuperado do meio de cultura.

[065] Os anticorpos também podem ser produzidos por um animal transgênico. Por exemplo, Pat. U.S. 5.849.992 descreve um método de expressão de um anticorpo na glândula mamária de um mamífero transgênico. Um transgene é construído, incluindo um promotor específico de leite e ácidos nucleicos que codificam o anticorpo de interesse e uma sequência sinal para a secreção. O leite produzido pelas fêmeas desses mamíferos transgênicos inclui, secretado nele, o anticorpo de interesse. O anticorpo pode ser purificado a partir do leite, ou para algumas aplicações, usado diretamente. Os animais também são fornecidos compreendendo um ou mais dos ácidos nucleicos aqui descritos.

[066] Os anticorpos da presente descrição podem ser isolados do interior ou do exterior (como meio) da célula hospedeira e purificados como anticorpos substancialmente puros e homogêneos. Métodos para isolamento e purificação comumente usados para purificação de anticorpos podem ser utilizados para o isolamento e purificação de anticorpos, e não estão limitados a nenhum método específico. Os anticorpos podem ser isolados e purificados selecionando e combinando adequadamente, por exemplo, cromatografia em coluna, filtração, ultrafiltração, salga, precipitação com solvente, extração por solvente, destilação, imunoprecipitação, eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida, foco isoelétrico, diálise e recristalização. A cromatografia inclui, por exemplo, cromatografia de afinidade, cromatografia de permuta iônica, cromatografia hidrofóbica, filtração em gel, cromatografia de fase reversa e cromatografia de adsorção (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed Daniel R. Marshak et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996). A cro-

matografia pode ser realizada utilizando cromatografia em fase líquida, como HPLC e FPLC. As colunas usadas para cromatografia de afinidade incluem coluna de proteína A e coluna de proteína G. Exemplos de colunas usando a coluna da proteína A incluem Hyper D, POROS e Sefarose FF (GE Healthcare Biosciences). A presente descrição também inclui anticorpos que são altamente purificados usando esses métodos de purificação.

### Dosagem

[067] O anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, B1B054) pode ser administrado a um sujeito, por exemplo, um sujeito humano, em doses diferentes. O anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, B1B054) pode ser administrado como uma dose fixa (ou seja, independente do peso do paciente) ou em uma dose de mg/kg (ou seja, uma dose que varia com base no peso do sujeito). A forma unitária de dosagem ou "dose fixa", conforme usado neste documento, refere-se a unidades fisicamente distintas adequadas como dosagens unitárias para os sujeitos a serem tratados; cada unidade contém uma quantidade predefinida de anticorpo calculada para atingir a concentração terapêutica desejada no sujeito. Independentemente da forma da dose (por exemplo, por peso ou fixa), o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é administrado em associação com o transportador farmacêutico necessário e, opcionalmente, em associação com outro agente terapêutico. Podem ser administradas doses únicas ou múltiplas. O tratamento pode continuar por dias, semanas, meses, um ano ou até vários anos. O tratamento pode ser parte de uma terapia combinada na qual o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é administrado em combinação com um ou mais agentes adicionais.

[068] Em uma modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é de 1 mg / kg de peso corporal do sujeito. Em outra modalidade, para o tratamento

de uma indicação aqui descrita, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é de 3 mg / kg de peso corporal do sujeito. Em ainda outra modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é de 5 mg / kg de peso corporal do sujeito. Em uma outra modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é de 15 mg / kg de peso corporal do sujeito. Em outra modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é de 45 mg / kg de peso corporal do sujeito. Em ainda outra modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é de 90 mg / kg de peso corporal do sujeito. Em ainda outra modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é de 135 mg / kg de peso corporal do sujeito. Estas doses podem ser preparadas para administração na forma de uma composição estéril juntamente com um transportador farmacêuticamente aceitável e/ou um excipiente(s) benéfico(s).

[069] Em uma modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 210 mg. Em outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 225 mg. Em outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 250 mg. Em ainda outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 350 mg. Em outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 375 mg. Em ainda outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 1050 mg. Em uma modalidade adicional, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 1125 mg. Em outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 1250 mg. Em outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma

dose fixa de 3150 mg. Em ainda uma outra modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 3375 mg. Em outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 3500 mg. Em uma modalidade adicional, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 6300 mg. Em outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 6750 mg. Em outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é uma dose fixa de 9450 mg. Estas doses fixas podem ser formuladas na forma de uma composição estéril juntamente com um transportador farmacêuticamente aceitável e/ou um excipiente(s) benéfico.

[070] As doses de mg / kg ou doses fixas descritas acima podem ser administradas ao sujeito diariamente, todas as semanas, toda semana e meia, a cada 2 semanas, a cada duas semanas e meia, a cada 3 semanas, a cada 4 semanas, a cada 5 semanas, a cada 6 semanas, a cada 7 semanas, a cada 8 semanas, mensalmente, quinzenalmente, semanalmente ou diariamente, conforme considerado adequado por um profissional de saúde, durante um período de tempo para abranger pelo menos 2 doses, 3 doses, 4 doses, 5 doses, 6 doses, 7 doses, 8 doses, 9 doses, 10 doses, 12 doses, 14 doses, 16 doses, 18 doses, 20 doses, 22 doses, 24 doses ou mais, de modo que a concentração terapêutica desejada seja alcançada e/ou mantida no sujeito.

[071] As doses são administradas por via intravenosa.

[072] Regimes de dosagem exemplificativos são fornecidos na tabela abaixo:

Via	Dose
IV, a cada 4 semanas (ou mensalmente)	3 mg/kg
IV, a cada 4 semanas (ou mensalmente)	15 mg/kg
IV, a cada 4 semanas (ou mensalmente)	45 mg/kg

[073] Uma composição farmacêutica pode incluir uma "quantida-

de terapeuticamente eficaz" do agente aqui descrito, de modo que a administração utilizando um regime de dosagem específico resulte em uma concentração terapeuticamente eficaz do anticorpo no líquido cefalorraquidiano (CSF) ou líquido intersticial cerebral (ISF). Tais quantidades eficazes podem ser determinadas com base no efeito do agente administrado. Uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente também pode variar de acordo com fatores como o estado da doença, idade, sexo e peso do indivíduo, e a capacidade do composto de provocar uma resposta desejada no indivíduo. Uma quantidade terapeuticamente eficaz também é uma na qual quaisquer efeitos tóxicos ou prejudiciais da composição são compensados pelos efeitos benéficos terapeuticamente.

[074] Em uma modalidade, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína administrado por via intravenosa (por exemplo, BIIIB054) é dosado de modo que uma concentração terapêutica desejada do anticorpo seja alcançada no CSF e/ou ISF do sujeito (por exemplo, sujeito humano). Em uma modalidade, o anticorpo atinge uma concentração suficiente para entrar no cérebro e produz um efeito terapêutico, por exemplo, mediado pela ligação à  $\alpha$ -sinucleína agregada e desencadeando a depuração/inativação dependente ou independente da microglia ou independente, reduzindo a agregação de  $\alpha$ -sinucleína e/ou prevenindo a propagação intracelular do tipo príon da  $\alpha$ -sinucleína.

[075] Em outra modalidade, a concentração terapêutica desejada pode ser igual à concentração do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, BIIIB054) que é capaz de fornecer e manter (após 1 ou mais doses) pelo menos 30-50% de redução da  $\alpha$ -sinucleína agregada em ISF e/ou CSF do sujeito.

[076] Em uma modalidade, a concentração terapêutica desejada alcança uma concentração de anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, BIIIB054) que está na EC<sub>50</sub> no ISF do sujeito.



[077] Em outra modalidade, a concentração terapêutica desejada pode ser igual a uma concentração de anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, BIIIB054) que é capaz de fornecer e manter (após 1 ou mais doses) uma redução de 50 a 90% da  $\alpha$ -sinucleína agregada em ISF e/ou CSF do sujeito.

[078] Em uma modalidade, a concentração terapêutica desejada alcança uma concentração de anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, BIIIB054) que está acima da  $EC_{50}$  e abaixo da  $EC_{90}$  na ISF do sujeito.

[079] Em ainda outra modalidade, a concentração terapêutica desejada pode ser igual a uma concentração de anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, BIIIB054) que é capaz de fornecer e manter (após 1 ou mais doses) uma redução superior a 90% da  $\alpha$ -sinucleína agregada no ISF e/ou CSF do sujeito.

[080] Em uma modalidade, a concentração terapêutica desejada alcança uma concentração de anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, BIIIB054) que está acima da  $EC_{90}$  no ISF do sujeito.

[081] Em uma modalidade, uma dose terapeuticamente eficaz é a dose de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, BIIIB054) que pode alcançar e manter a concentração terapêutica desejada (após 1 ou mais doses).

#### Métodos de Tratamento

[082] Os anticorpos anti- $\alpha$ -sinucleína aqui descritos (por exemplo, BIIIB054) podem ser utilizados para o tratamento profilático e terapêutico de uma sinucleinopatia em um sujeito (por exemplo, sujeito humano) em necessidade do mesmo.

[083] As sinucleinopatias incluem distúrbios relacionados a agregados de  $\alpha$ -sinucleína, como doença de Parkinson (PD), Demência da Doença de Parkinson (PDD), demência com corpos de Lewy (DLB), variante de corpo de Lewy da doença de Alzheimer (LBVAD), falência

autonômica pura (PAF), atrofia de múltiplos sistemas (MSA) e neurodegeneração com acúmulo de ferro no cérebro tipo 1 (NBIA-I)).

[084] Esta descrição também se refere a um método de tratamento de um distúrbio neurológico caracterizado por acúmulo anormal e/ou deposição de  $\alpha$ -sinucleína no cérebro e no sistema nervoso central, respectivamente, cujo método compreende administrar a um sujeito (por exemplo, sujeito humano) em necessidade do mesmo uma quantidade terapeuticamente eficaz de qualquer um dos anticorpos  $\alpha$ -sinucleína descritos acima. Em certas modalidades, o distúrbio neurológico é a doença de Parkinson (PD), demência com corpos de Lewy (DLB) ou atrofia de múltiplos sistemas (MSA).

[085] A doença de Parkinson é uma síndrome clínica caracterizada por distúrbios do movimento e uma variedade de características não motoras, como comprometimento cognitivo. Patologicamente, há acentuada perda celular no locus ceruleus, núcleo motor dorsal do vago, núcleo rafe, substância negra pars compacta, núcleo basal de Meynert e núcleo pedunculopontino, causando reduções nos neurotransmissores correspondentes. A perda celular é precedida pela formação de corpos intracitoplasmáticos de Lewy (LB) e processos neuríticos espessados, chamados neurites de Lewy (LN). Os LNs podem ser encontrados em áreas sem LBs clássicos, incluindo amígdala, hipocampo e neocórtex. Não existe uma causa única de Parkinson. Pelo contrário, existem várias causas genéticas e ambientais. Essas causas representam coletivamente grande parte do risco e apontam para caminhos comuns e sobrepostos de neurodegeneração. A  $\alpha$ -sinucleína é uma proteína de 14 kDa que é codificada em humanos pelo gene SNCA. Várias linhas de evidência apontam para um papel central da  $\alpha$ -sinucleína na patogênese de Parkinson. Primeiro, estudos neuropatológicos mostraram que a  $\alpha$ -sinucleína agregada é um constituinte essencial de LBs e LNs. Estudos genéticos identificaram três muta-

ções pontuais (A53T, A30P e E64K) associadas ao Parkinson autossômico dominante. Mais recentemente, triplicações e duplicações do SNCA foram identificadas em pacientes com formas agressivas de início precoce de Parkinson. Existe uma ligação entre a expressão aparentemente esporádica do gene de Parkinson e SNCA, na medida em que polimorfismos na região promotora e redução do silenciamento epigenético estão associados a um risco aumentado de Parkinson. Tomados em conjunto, esses estudos genéticos sugerem uma relação dose-resposta e defendem um ganho da função da  $\alpha$ -sinucleína no Parkinson. A toxicidade da  $\alpha$ -sinucleína parece estar relacionada à sua propensão a agregar. A  $\alpha$ -sinucleína tem uma alta propensão a agregar in vitro. As mutações pontuais e multiplicações associadas ao Parkinson autossômicas dominantes aumentam a tendência da  $\alpha$ -sinucleína polimerizar e formar oligômeros e estruturas fibrilares de ordem superior. Devido ao seu papel central na patogênese de Parkinson, as abordagens para modificar a  $\alpha$ -sinucleína são um importante alvo em potencial nas doenças de Parkinson e outras sinucleinopatias. A remoção e a inativação da  $\alpha$ -sinucleína mediada por anticorpos podem reduzir a agregação e a disseminação da patologia e, assim, retardar o declínio dos sinais e sintomas clínicos de Parkinson. Uma redução modesta dos níveis de proteína  $\alpha$ -sinucleína é suficiente para diminuir a progressão de Parkinson. De fato, a duplicação do gene da  $\alpha$ -sinucleína leva a um Parkinson familiar de início precoce, mas apenas a um aumento de 1,5 vezes nos níveis de proteínas da  $\alpha$ -sinucleína.

[086] Em uma modalidade, é fornecido um método de tratamento de uma sinucleinopatia, por exemplo, doença de Parkinson, em um sujeito humano em necessidade do mesmo. Em certas modalidades, a doença de Parkinson é uma doença de Parkinson leve. Em outras modalidades, a doença de Parkinson é doença de Parkinson moderada. O método envolve administrar ao sujeito humano uma quantidade te-

terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína aqui descrito (por exemplo, BIIIB054). Em certos casos, ao sujeito é administrado o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína na dose de 3 mg por kg, 5 mg por kg, 15 mg por kg, 45 mg por kg, 90 mg por kg ou 135 mg por kg de peso corporal do sujeito. Em outros casos, ao sujeito é administrado o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína em uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1050 mg, 1125 mg, 1250 mg, 3150 mg, 3375 mg, 3500 mg, 6300 mg, 6750 mg ou 9450 mg. Em alguns casos, ao sujeito é administrado pelo menos 2 doses, pelo menos 3 doses, pelo menos 4 doses, pelo menos 5 doses, pelo menos 6 doses, pelo menos 7 doses, pelo menos 8 doses, pelo menos 9 doses, pelo menos 10 doses, pelo menos 11 doses ou pelo menos 12 doses ou 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 doses. O anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína administrado por via intravenosa (por exemplo, BIIIB054) pode entrar no cérebro, ligar-se à  $\alpha$ -sinucleína e acionar a depuração / inativação dependente de microglia ou independente, reduzir a agregação de  $\alpha$ -sinucleína e / ou impedir a propagação intracelular de  $\alpha$ -sinucleína do tipo príon. O anticorpo periférico anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, BIIIB054) também pode atuar como um coletor periférico para a  $\alpha$ -sinucleína do CNS.

[087] Em outra modalidade, esta descrição apresenta métodos de tratamento de um distúrbio caracterizado por agregação e / ou disseminação intracelular de  $\alpha$ -sinucleína. Em certas modalidades, o distúrbio é atrofia de múltiplos sistemas (MSA). Em outras modalidades, o distúrbio é demência com corpos de Lewy (DLB). O método envolve administrar ao sujeito humano uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína aqui descrito (por exemplo, BIIIB054). Em certos casos, ao sujeito é administrado o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína na dose de 3 mg por kg, 5 mg por kg, 15 mg por kg, 45 mg por kg, 90 mg por kg ou 135 mg por kg de peso corporal do sujeito. Em outros casos, ao sujeito é administrado o anticorpo anti- $\alpha$ -

sinucleína em uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1050 mg, 1125 mg, 1250 mg, 3150 mg, 3375 mg, 3500 mg, 6300 mg, 6750 mg ou 9450 mg. Em alguns casos, ao sujeito é administrado pelo menos 2 doses, pelo menos 3 doses, pelo menos 4 doses, pelo menos 5 doses, pelo menos 6 doses, pelo menos 7 doses, pelo menos 8 doses, pelo menos 9 doses, pelo menos 10 doses, pelo menos 11 doses ou pelo menos 12 doses ou 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 doses.

[088] Em ainda outra modalidade, esta descrição se refere a métodos de tratamento de uma condição caracterizada por acúmulo e / ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central (por exemplo, cérebro) de um sujeito humano em necessidade do mesmo. O método envolve administrar ao sujeito humano uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína aqui descrito (por exemplo, B11B054). Em certos casos, ao sujeito é administrado o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína na dose de 3 mg por kg, 5 mg por kg, 15 mg por kg, 45 mg por kg, 90 mg por kg ou 135 mg por kg de peso corporal do sujeito. Em outros casos, ao sujeito é administrado o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína em uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1050 mg, 1125 mg, 1250 mg, 3150 mg, 3375 mg, 3500 mg, 6300 mg, 6750 mg ou 9450 mg. Em alguns casos, ao sujeito é administrado pelo menos 2 doses, pelo menos 3 doses, pelo menos 4 doses, pelo menos 5 doses, pelo menos 6 doses, pelo menos 7 doses, pelo menos 8 doses, pelo menos 9 doses, pelo menos 10 doses, pelo menos 11 doses ou pelo menos 12 doses ou 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 doses.

[089] Em outra modalidade, a descrição apresenta um método de tratamento de um sujeito humano pré-sintomático com necessidade de tratamento para reduzir ou impedir o acúmulo e / ou a deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central (por exemplo, cé-

rebro). O método envolve administrar ao sujeito humano uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína aqui descrito (por exemplo, BII B054). Em certos casos, ao sujeito é administrado o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína na dose de 3 mg por kg, 5 mg por kg, 15 mg por kg, 45 mg por kg, 90 mg por kg ou 135 mg por kg de peso corporal do sujeito. Em outros casos, ao sujeito é administrado o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína em uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1050 mg, 1125 mg, 1250 mg, 3150 mg, 3375 mg, 3500 mg, 6300 mg, 6750 mg ou 9450 mg. Em alguns casos, ao sujeito é administrado pelo menos 2 doses, pelo menos 3 doses, pelo menos 4 doses, pelo menos 5 doses, pelo menos 6 doses, pelo menos 7 doses, pelo menos 8 doses, pelo menos 9 doses, pelo menos 10 doses, pelo menos 11 doses ou pelo menos 12 doses ou 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 doses.

[090] Um sujeito humano pode ser identificado como tendo acúmulo ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central (por exemplo, no cérebro) por qualquer método conhecido na técnica. Em certas modalidades, o nível de  $\alpha$ -sinucleína é avaliado por imageamento in vivo de  $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, no cérebro) e compreensão tomografia por emissão de pósitrons (PET), tomografia por emissão de fóton único (SPECT), imageamento óptico por infravermelho próximo (NIR), imageamento por ressonância magnética (MRI), imageamento de transportador de dopamina ou ultrassonografia de substância negra. Em algumas dessas modalidades, um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína marcado (por exemplo, BII B054 marcado) ou um fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo é administrado a um sujeito humano e a ligação do anticorpo à  $\alpha$ -sinucleína é avaliada. O nível de  $\alpha$ -sinucleína também pode ser avaliado por outros métodos conhecidos na técnica compreendendo, por exemplo, analisar a  $\alpha$ -sinucleína por uma ou mais técnicas escolhidas dentre Western blot, imunoprecipita-

ção, ensaio de imunoabsorção ligado à enzima (ELISA), rádio-imunoensaio (RIA), separação de células com fluorescência ativada (FACS), eletroforese em gel bidimensional, espectroscopia de massa (MS), tempo de voo-MS de dessorção / ionização à laser assistida por matriz (MALDI-TOF), tempo de voo de dessorção / ionização por superfície melhorada à laser (SELDI -TOF), cromatografia líquida de alta performance (HPLC), cromatografia líquida de proteína rápida (FPLC), cromatografia líquida multidimensional (LC), seguido por espectrometria de massa (MS / MS), e densitometria à laser. Em certos casos, o nível de  $\alpha$ -sinucleína no cérebro de um sujeito pode ser avaliado analisando o nível de  $\alpha$ -sinucleína em uma amostra de sangue ou plasma obtida do sujeito após administração periférica ao sujeito de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína (por exemplo, BII054) ou um fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína e comparação do nível testado de  $\alpha$ -sinucleína no sujeito a um padrão de referência, em que a diferença ou semelhança entre o nível de  $\alpha$ -sinucleína na amostra de sangue ou plasma e o padrão de referência se correlaciona com o nível de  $\alpha$ -sinucleína no cérebro do sujeito.

[091] Em algumas modalidades, em todos os métodos de tratamento descritos acima, o sujeito humano está em risco de desenvolver a doença de Parkinson (por exemplo, devido ao sujeito ter um fator de risco genético, como uma mutação no gene SNCA, LRRK2, Parkin, PINK1, DJ1, ATP13A2, PLA2G6, FBXO7, UCHL1, GIGYF2, HTRA2 ou EIF4G1) ou o sujeito humano possui a doença de Parkinson prodrômica (por exemplo, o sujeito apresenta sintomas ou agrupamentos de sintomas associados ao desenvolvimento futuro da doença de Parkinson, como hiposmia, distúrbio do comportamento REM, dermatose seborreica e/ou certos sintomas autonômicos, incluindo, entre outros, hipotensão ortostática, impotência no sexo masculino e/ou distúrbios do controle da bexiga).

[092] Em algumas modalidades em todos os métodos de tratamento descritos acima, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga seletivamente à  $\alpha$ -sinucleína e compreende (i) um domínio VH que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos do domínio VH de B1B054 (SEQ ID NO: 8) e / ou (ii) um domínio VL que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos do domínio VL de B1B054 (SEQ ID NO: 9); ou difere pelo menos em 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas em menos de 40, 30, 20, 15 ou 10 resíduos da SEQ ID NO: 8 e / ou SEQ ID NO: 9. Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação ao antígeno do mesmo possui seis CDRs que são idênticas às seis CDRs do B1B054 e quaisquer substituições são feitas na região de estrutura. Em certos casos, esses anticorpos anti- $\alpha$ -sinucleína ou fragmentos de ligação à  $\alpha$ -sinucleína (i) se ligam à  $\alpha$ -sinucleína, mas não se ligam significativamente a  $\beta$ - ou  $\gamma$ -sinucleína; e / ou (ii) se ligam seletivamente a um epítipo dentro dos aminoácidos 4-15 da SEQ ID NO: 12. Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende um domínio VH que consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8 e um domínio VL que consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9.

[093] Em algumas modalidades em todos os métodos de tratamento descritos acima, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína ou o fragmento de ligação à  $\alpha$ -sinucleína do mesmo se liga seletivamente à  $\alpha$ -sinucleína humana e compreende (i) uma cadeia pesada que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntica à sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10 e / ou (ii) uma cadeia leve que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%,



90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntica à sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 11, ou difere pelo menos de 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas em menos de 40, 30, 20, 15 ou 10 resíduos da SEQ ID NO: 10 e / ou SEQ ID NO : 11. Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreende uma cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 10 e uma cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 11.

[094] O exemplo a seguir não deve ser interpretado como limitando o escopo da invenção de forma alguma.

#### Exemplos

##### Exemplo 1: Justificativa para o regime de dosagem para BIIIB054

[095] Os regimes de dosagem foram selecionados com base nos dados de segurança, tolerabilidade, farmacocinética (PK) no soro e no líquido cefalorraquidiano (CSF), na afinidade de BIIIB054 à  $\alpha$ -sinucleína agregada e nas concentrações simuladas do CSF do BIIIB054 após doses múltiplas.

[096] Doses intravenosas (IV) únicas de BIIIB054 até e incluindo 90 mg / kg em sujeitos saudáveis demonstraram tolerabilidade aceitável. Os perfis séricos para BIIIB054 foram medidos em sujeitos. Um gráfico mostrando a concentração sérica (ng / ml) em sujeitos individuais é mostrado na Figura 1. Os perfis séricos médios foram calculados para os pacientes em cada nível de dose nos horários indicados e estão representados na Figura 2.

[097] Verificou-se que os parâmetros de PK, medidos por AUC e C<sub>max</sub>, mudam de maneira dependente da dose na faixa de doses de 1 mg / kg a 135 mg / kg. A dependência da dose da AUC é mostrada na Figura 3 e da C<sub>max</sub> é mostrada na Figura 4.

[098] As concentrações de BIIIB054 CSF após doses múltiplas foram simuladas com base em um modelo populacional de PK desen-

volvido com base em dados de doses únicas IV.

[0099] Os valores de  $EC_{50}$  e  $EC_{90}$  para BIIB054 para  $\alpha$ -sinucleína agregada foram derivados de constantes de ligação in vitro do anticorpo para  $\alpha$ -sinucleína agregada. Usando esses valores, uma faixa de resposta à dose para a concentração de BIIB054 no líquido intersticial (ISF) versus a porcentagem de ligação ao alvo de  $\alpha$ -sinucleína foi representada e é mostrada na Figura 5.

[0100] As doses de BIIB054 de 3, 15 e 45 mg / kg administradas como infusão intravenosa a cada 4 semanas são suportadas pela modelagem a seguir, usando os dados da dose ascendente única (SAD). A Figura 6 mostra as concentrações no CSF versus o tempo para as doses de 3, 15 e 45 mg / kg. Com base na modelagem:

(i) infusão intravenosa de 3 mg / kg uma vez a cada 4 semanas foi selecionada para manter a concentração de BIIB054 no CSF e no líquido intersticial cerebral (ISF) igual ou superior a  $EC_{50}$  para a maioria dos sujeitos.

(ii) 15 mg / kg de infusão intravenosa uma vez a cada 4 semanas foram selecionados para manter um alvo de CSF e ISF igual ou superior a  $EC_{90}$ , além de fornecer uma separação adequada entre as doses para elucidar a relação exposição-resposta.

(iii) a infusão intravenosa de 45 mg / kg uma vez a cada 4 semanas foi selecionada para manter um alvo de CSF e ISF acima de  $EC_{90}$  para todos os sujeitos.

#### Exemplo 2: Seleção de Dose para a Fase 2

[0101] Neste estudo Fase 2, os pacientes receberão uma infusão intravenosa (IV) de um tratamento em estudo (250, 1250 ou 3500 mg) uma vez a cada 4 semanas, para um total de 13 doses. Os níveis de dose de BIIB054 foram selecionados com base na segurança, tolerabilidade e farmacocinética (PK) de BIIB054 em voluntários saudáveis, dados de toxicologia não clínica, afinidade de BIIB054 a alfa-sinucleína

agregada in vitro e perfis de tempo de concentração de BIIB054 CSF simulados em estado estacionário.

[0102] Estudos in vitro estabeleceram que BIIB054 se liga a formas solúveis e agregadas de  $\alpha$ -sinucleína, com uma afinidade de ligação aparente mais alta para agregados. A concentração efetiva semi-máxima ( $EC_{50}$ ) de BIIB054 para  $\alpha$ -sinucleína agregada foi estimada em  $\sim 0,25$  nM, a  $EC_{90}$  foi  $\sim 2,1$  nM ( $0,0375$   $\mu$ g / ml e  $0,315$   $\mu$ g / ml, respectivamente).

[0103] Um estudo de Fase 1, primeiro em seres humanos, para avaliar doses ascendentes únicas em voluntários saudáveis (HVs), com idades entre 40 e 65 anos, e sujeitos com PD está em andamento. Os HVs receberam doses IV de 1 mg / kg a 135 mg / kg, ou placebo. As concentrações séricas e de CSF nos HVs foram descritas usando um modelo populacional de PK. Posteriormente, os parâmetros de PK estimados, bem como entre a variabilidade dos sujeitos e as estimativas de variabilidade residual dos HVs foram usados para simular 1000 perfis séricos e no estado estacionário de CSF. Para explicar as diferenças de peso entre HV e a população-alvo da Fase 2, o banco de dados PPMI foi usado como fonte de distribuição de peso em pacientes com PD.

[0104] Foram realizadas simulações dos perfis no CSF para vários níveis de dose entre 1 mg / kg e 45 mg / kg para permitir a seleção da dose. As concentrações de BIIB054 no CSF e no líquido intersticial cerebral (ISF) foram consideradas iguais. Dado o perfil de segurança favorável de BIIB054, uma abordagem de dose fixa deve ser implementada neste estudo.

[0105] Simulações baseadas em dados preliminares de soro e líquido cefalorraquidiano (CSF) do primeiro estudo em seres humanos indicam que para uma dose de 250 mg, a concentração de BIIB054 no CSF e no ISF no estado estacionário é projetada acima de  $EC_{50}$  para a

maioria dos sujeitos. A dose mais alta (3500 mg) foi selecionada para manter esses níveis acima de  $EC_{90}$  para 95% dos sujeitos, a fim de aumentar a probabilidade de demonstrar eficácia para BII054. Espera-se que uma dose intermediária de 1250 mg mantenha um nível de CSF e ISF igual ou superior a  $EC_{90}$ , bem como forneça separação adequada entre doses para elucidar a relação exposição-resposta. Ver, Figura 7. Estatísticas resumidas das concentrações mínimas simuladas de CSF em estado estacionário para as doses propostas da Fase 2 são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2: Estatísticas resumidas das concentrações mínimas simuladas de CSF no estado estacionário ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) para doses propostas da Fase 2.

Dose, mg	Concentrações mínimas simuladas de CSF no estado estacionário ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )		
	Mediana, q50	q5	q95
250	0,076	0,029	0,191
1250	0,369	0,128	0,936
3500	1,07	0,403	2,79

[0106] Dados de eficácia não clínica também sugerem que se espera que a dose de 250 mg forneça eficácia mínima com base em estudos em camundongos transgênicos de sinucleína D-Line. A exposição eficaz estimada em camundongos foi de aproximadamente 1.317 dias \*  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . A depuração do BII054 em HV é, em média, 0,0052 L / h ou 0,1248 L / dia. Assim, usando  $\text{Dose} = \text{Cl} \times \text{AUC}$ , a dose farmacologicamente eficaz média mínima projetada é de aproximadamente 164 mg.

[0107] No geral, espera-se que todas as três doses sejam seguras e bem toleradas em humanos. Espera-se que a dose planejada mais alta (3500 mg) produza uma área média de estado estacionário sob a curva de concentração-tempo do tempo zero ao momento da próxima

dose ( $AUC_{\text{tau}}$ ) e os valores da concentração máxima observada ( $C_{\text{max}}$ ) valores aproximadamente 2,3 a 11 vezes mais baixos do que os observados no nível de efeito adverso não observado no estudo de toxicologia de 26 semanas em ratos (Tabela 3).

Tabela 3:  $AUC_{\text{tau}}$  sérico no estado estacionário projetado,  $C_{\text{max}}$  no estado estacionário e margens de segurança para doses propostas da Fase 2.

Dose, mg	Parâmetros projetados		Margens de segurança*	
	$AUC_{\text{tau}}$ , h* $\mu\text{g/ml}$ Mediana (q5-q95)	$C_{\text{max}}$ , $\mu\text{g/ml}$ Mediana (q5-q95)	$AUC_{\text{tau}}$ Mediana (q5-q95)	$C_{\text{max}}$ Mediana (q5-q95)
250	44.400 (28.000 – 68.300)	134,4 (91,5 - 199,3)	31 (20-50)	149 (100-219)
1250	220.000 (134.000 – 334.000)	668 (448 – 1.020)	6,3 (4,2-10)	59 (20-45)
3500	610.000 (383.000 – 937.000)	1860 (1.230 – 2.770)	2,3 (1,5-3,6)	11 (7-16)

\*Calculado com base na média de  $AUC_{0-168h}$  and  $C_{\text{max}}$  após a última dose de BIIB054 em um estudo de toxicologia em ratos de 26 semanas.  $AUC_{\text{tau}}$  a NOAEL =  $AUC_{0-168h} * 4 = 1.395.000 \text{ h} * \mu\text{g/ml}$

#### Outras Modalidades

[0108] Embora a invenção tenha sido descrita em combinação com a descrição detalhada da mesma, a descrição supracitada é destinada a ilustrar e não limitar o escopo da invenção, o que é definido pelo escopo das reivindicações anexas. Outros aspectos, vantagens e modificações estão dentro do escopo das reivindicações a seguir.

## REIVINDICAÇÕES

1. Método para tratar uma sinucleinopatia em um sujeito humano em necessidade do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína em uma dose de 3 mg por kg, 5 mg por kg, 15 mg por kg, 45 mg por kg, ou 90 mg por kg de peso corporal do sujeito humano, em que o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreende uma região variável da cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e uma região variável da cadeia leve (VL) de imunoglobulina, em que:

(a) a VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que:

VH-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 1;

VH-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; e

VH-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; e

(b) a VL compreende VL-CDRs, em que:

VL-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;

VL-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; e

VL-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a sinucleinopatia é doença de Parkinson (PD), demência da doença de Parkinson (PDD), demência com corpos de Lewy (DLB), variante do corpo de Lewy da doença de Alzheimer (LBVAD), atrofia de múltiplos sistemas (MSA), falência autonômica pura (PAF), ou neurodegeneração com acúmulo de ferro no cérebro tipo

1 (NBIA-I).

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a sinucleinopatia é doença de Parkinson.

4. Método para tratar acúmulo ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central de um sujeito humano em necessidade do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína na dose de 3 mg por kg, 5 mg por kg, 15 mg por kg, 45 mg por kg ou 90 mg por kg de peso corporal do sujeito humano, em que o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e uma região variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, em que:

(a) a VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que:

VH-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 1;

VH-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; e

VH-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; e

(b) a VL compreende VL-CDRs, em que:

VL-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;

VL-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; e

VL-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que o sujeito humano foi identificado como tendo acúmulo ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central.

6. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8.

7. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9.

8. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8 e a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9.

9. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 humana.

10. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que o anticorpo compreende uma região constante de cadeia leve lambda humana.

11. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que o anticorpo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 10 e a cadeia leve consiste no aminoácido sequência estabelecida na SEQ ID NO: 11.

12. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é administrado a cada 4 semanas, a cada 3 semanas, a cada 2 semanas ou a cada semana.

13. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que 3 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas.

14. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que 5 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas.

15. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que 15 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas.

16. Método, de acordo com qualquer uma das reivindica-



ções 1 a 11, caracterizado pelo fato de que 45 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas.

17. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que 90 mg por kg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína são administrados a cada 4 semanas.

18. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 17, caracterizado pelo fato de que ao sujeito humano são administradas pelo menos 2 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

19. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 17, caracterizado pelo fato de que ao sujeito humano são administradas pelo menos 12 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

20. Composição estéril, caracterizada pelo fato de que compreende uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1.050 mg, 1.125 mg, 1.250 mg, 3.150 mg, 3.375 mg, 3.500 mg, 6.300 mg ou 6.750 mg de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína junto com transportador farmacêuticamente aceitável, em que o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e uma região variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, em que:

(a) a VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que:

VH-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 1;

VH-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; e

VH-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; e

(b) a VL compreende VL-CDRs, em que:

VL-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;

VL-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; e

VL-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

21. Composição estéril, de acordo com a reivindicação 20, caracterizada pelo fato de que a composição estéril é fornecida em um

frasco.

22. Composição estéril, de acordo com a reivindicação 20, caracterizada pelo fato de que a composição estéril é fornecida em uma seringa ou bomba adaptada para administração intravenosa do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

23. Composição estéril, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 22, caracterizada pelo fato de que a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8.

24. Composição estéril, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 22, caracterizada pelo fato de que a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9.

25. Composição estéril, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 22, caracterizada pelo fato de que a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8 e a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9.

26. Composição estéril, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 25, caracterizada pelo fato de que o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 humana.

27. Composição estéril, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 25, caracterizada pelo fato de que o anticorpo compreende uma região constante de cadeia leve lambda humana.

28. Composição estéril, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 22, caracterizada pelo fato de que o anticorpo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 10 e a cadeia leve consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 11.

29. Método para tratar uma sinucleinopatia em um sujeito humano em necessidade do mesmo, o método caracterizado pelo fato

de que compreende a administração intravenosa ao sujeito humano da dose fixa do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína a partir da composição estéril como definida em qualquer uma das reivindicações 20 a 28.

30. Método, de acordo com a reivindicação 29, caracterizado pelo fato de que a sinucleinopatia é doença de Parkinson (PD), demência da doença de Parkinson (PDD), demência com corpos de Lewy (DLB), variante corporal de Lewy da doença de Alzheimer (LBVAD), atrofia de múltiplos sistemas (MSA), falência autonômica pura (PAF) ou neurodegeneração com acúmulo de ferro no cérebro tipo 1 (NBIA-I).

31. Método, de acordo com a reivindicação 29, caracterizado pelo fato de que a sinucleinopatia é doença de Parkinson.

32. Método para tratar acúmulo ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central em um sujeito humano em necessidade do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende a administração intravenosa ao sujeito humano da dose fixa do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína a partir da composição estéril como definida em qualquer uma das reivindicações 20 a 28.

33. Método, de acordo com a reivindicação 32, caracterizado pelo fato de que o sujeito humano foi identificado como tendo acúmulo ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central.

34. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 29 a 33, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é administrado a cada 4 semanas, a cada 3 semanas, a cada 2 semanas ou a cada semana.

35. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 29 a 33, caracterizado pelo fato de que uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1.050 mg, 1.125 mg, 1.250 mg, 3.150 mg, 3.375 mg, 3.500 mg, 6.300 mg ou 6.750 mg é administrada

a cada 4 semanas.

36. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 29 a 35, caracterizado pelo fato de que ao sujeito humano são administradas pelo menos 2 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

37. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 29 a 35, caracterizado pelo fato de que ao sujeito humano são administradas pelo menos 12 doses do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

38. Método para tratar uma sinucleinopatia em um sujeito humano em necessidade do mesmo, o método caracterizado pelo fato de que compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1.050 mg, 1.125 mg, 1.250 mg, 3.150 mg, 3.375 mg, 3.500 mg, 6.300 mg ou 6.750 mg de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína, em que o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e uma região variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, em que:

(a) a VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que:

VH-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 1;

VH-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; e

VH-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; e

(b) a VL compreende VL-CDRs, em que:

VL-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;

VL-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; e

VL-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

39. Método, de acordo com a reivindicação 38, caracterizado pelo fato de que a sinucleinopatia é doença de Parkinson (PD), demência da doença de Parkinson (PDD), demência com corpos de Lewy (DLB), variante corporal de Lewy da doença de Alzheimer (LBVAD), atrofia de múltiplos sistemas (MSA), falência autonômica pu-

ra (PAF) ou neurodegeneração com acúmulo de ferro no cérebro tipo 1 (NBIA-I).

40. Método, de acordo com a reivindicação 38, caracterizado pelo fato de que a sinucleinopatia é a doença de Parkinson.

41. Método para tratar acúmulo ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central em um sujeito humano em necessidade do mesmo, o método caracterizado pelo fato de que compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 210 mg, 225 mg, 250 mg, 350 mg, 375 mg, 1.050 mg, 1.125 mg, 1.250 mg, 3.150 mg, 3.375 mg, 3.500 mg, 6.300 mg ou 6.750 mg de um anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína, em que o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e uma região variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, em que:

(a) a VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que:

VH-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 1;

VH-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; e

VH-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; e

(b) a VL compreende VL-CDRs, em que:

VL-CDR1 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;

VL-CDR2 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; e

VL-CDR3 consiste nos resíduos de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

42. Método, de acordo com a reivindicação 41, caracterizado pelo fato de que o sujeito humano foi identificado como tendo acúmulo ou deposição anormal de  $\alpha$ -sinucleína no sistema nervoso central.

43. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8.

44. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9.

45. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que a VH consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8 e a VL consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9.

46. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 45, caracterizado pelo fato de que o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 humana.

47. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 45, caracterizado pelo fato de que o anticorpo compreende uma região constante de cadeia leve lambda humana.

48. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que o anticorpo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 10 e a cadeia leve consiste na sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 11.

49. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 48, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína é administrado a cada 4 semanas, a cada 3 semanas, a cada 2 semanas ou a cada semana.

50. Composição estéril, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 28, caracterizada pelo fato de que compreende uma dose fixa de 250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

51. Composição estéril, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 28, caracterizada pelo fato de que compreende uma dose fixa de 1.250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

52. Composição estéril, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 20 a 28, caracterizada pelo fato de que compreende uma dose fixa de 3.500 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

53. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 29 a 37, caracterizado pelo fato de que a dose fixa é de 250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

54. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 29 a 37, caracterizado pelo fato de que a dose fixa é de 1.250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

55. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 29 a 37, caracterizado pelo fato de que a dose fixa é de 3.500 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

56. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 49, caracterizado pelo fato de que o método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

57. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 49, caracterizado pelo fato de que o método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 1.250 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

58. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 49, caracterizado pelo fato de que o método compreende a administração intravenosa ao sujeito humano de uma dose fixa de 3.500 mg do anticorpo anti- $\alpha$ -sinucleína.

FIGURA 1

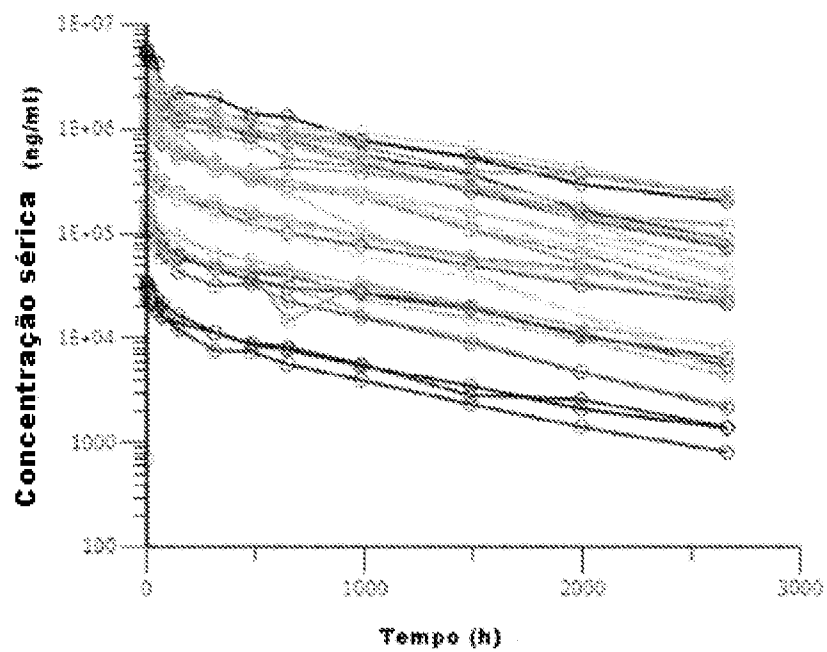




FIGURA 2

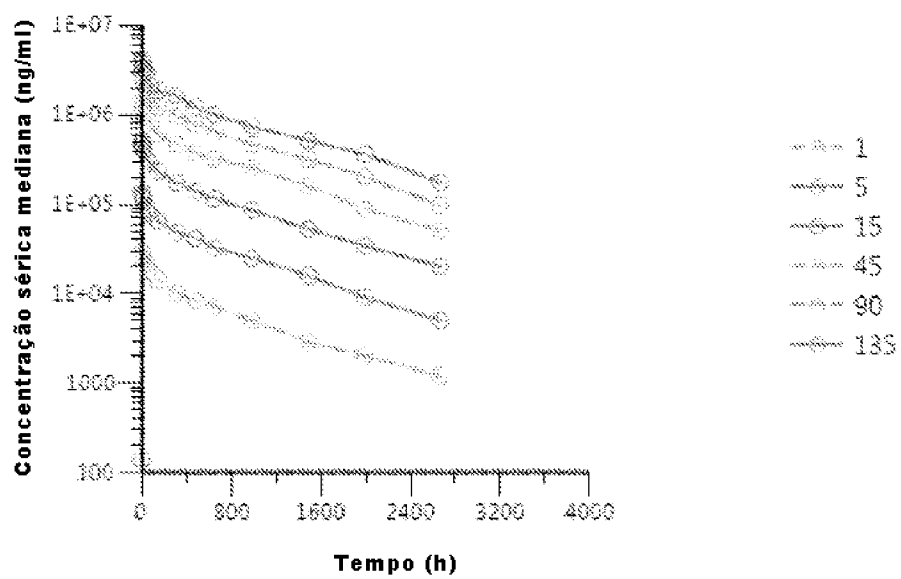


FIGURA 3

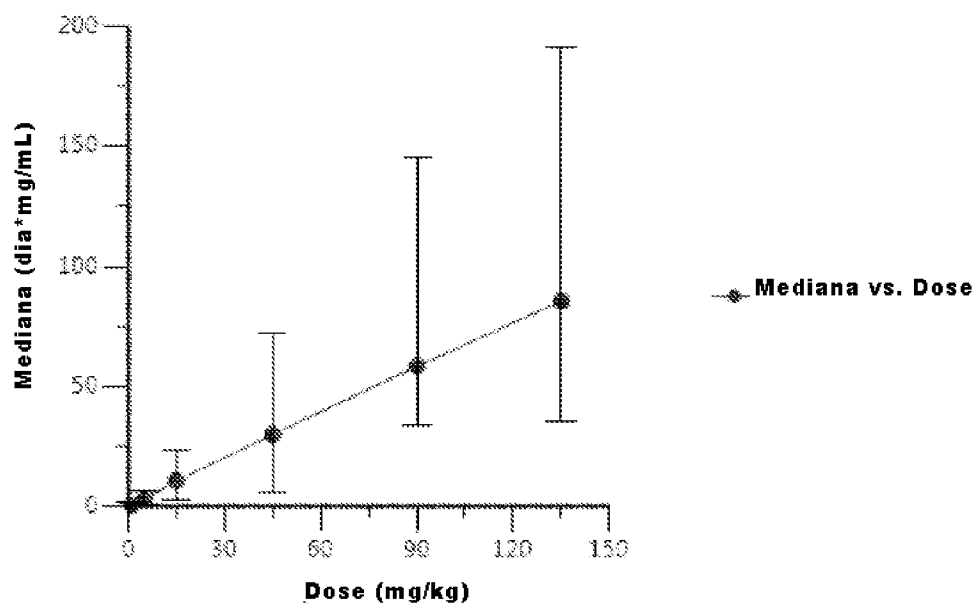


FIGURA 4

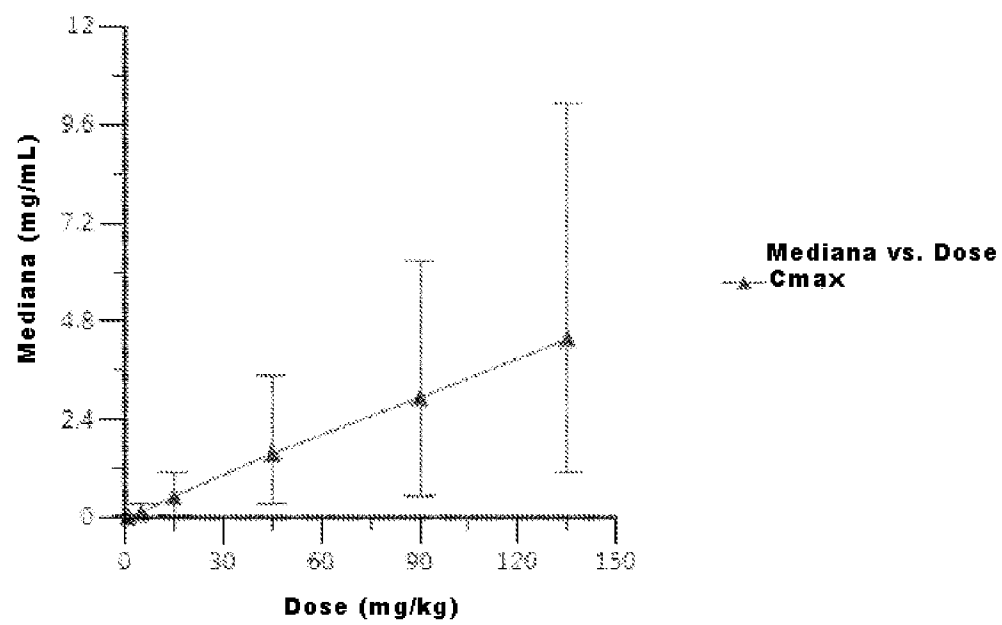


FIGURA 5

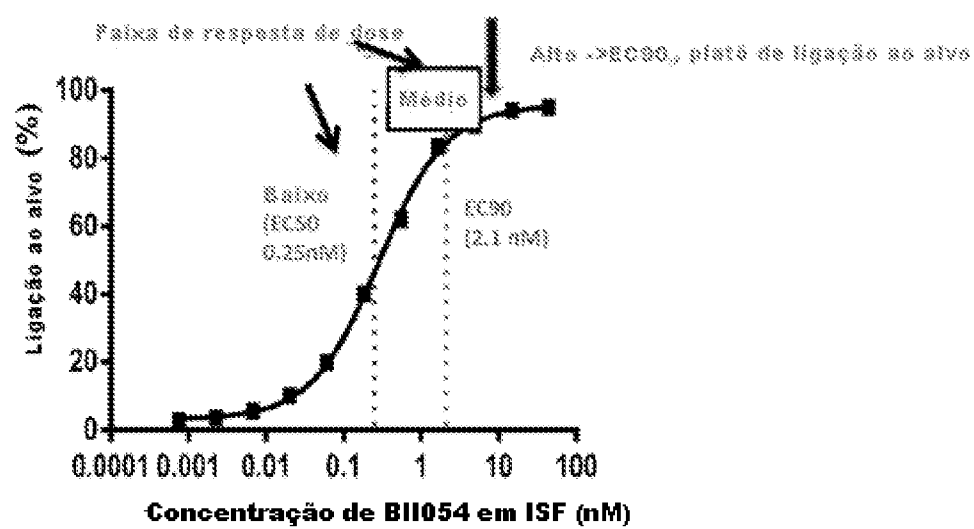


FIGURA 6

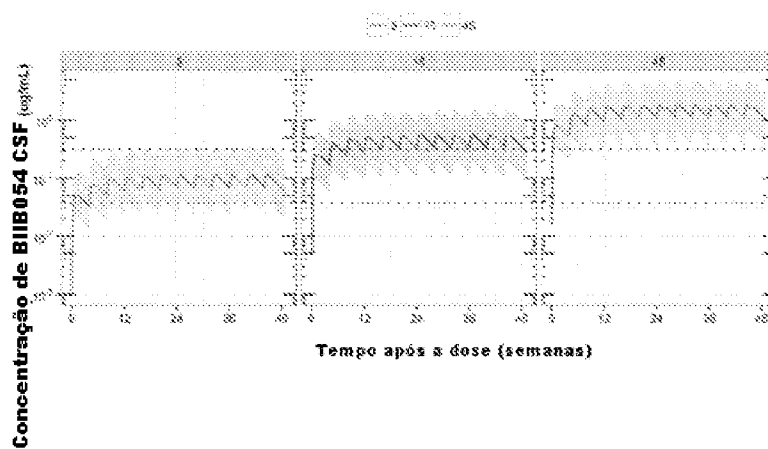
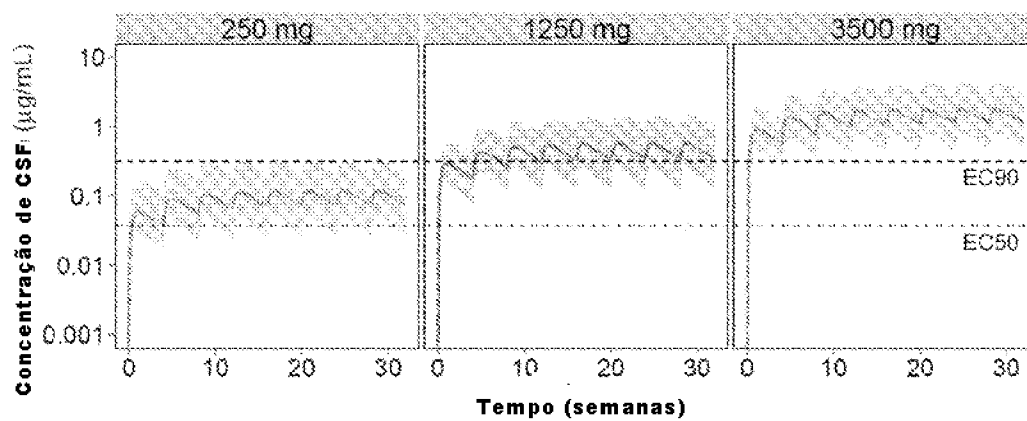


FIGURA 7



## RESUMO

Patente de Invenção: "**COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA TRATAR SINUCLEINOPATIAS**".

São fornecidos regimes de dosagem de anticorpos anti- $\alpha$ -sinucleína. Estes regimes de dosagem encontram uso no tratamento de sinucleinopatias, tal como Doença de Parkinson (PD), Demência da Doença de Parkinson (PDD), demência com corpos de Lewy (DLB), variante de corpo de Lewy de doença de Alzheimer (LBVAD), falência autonômica pura (PAF), atrofia de múltiplos sistemas (MSA) e neuro-degeneração com acúmulo de ferro no cérebro tipo 1 (NBIA-I).

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

### **Código de Controle**

#### **Campo 1**



#### **Campo 2**



#### **Outras Informações:**

- Nome do Arquivo: LISTAGEM DE SEQUÊNCIA EMENDAS P242653.TXT
- Data de Geração do Código: 21/10/2019
- Hora de Geração do Código: 09:56:40
- Código de Controle:
  - Campo 1: DE3D1D14C3C39525
  - Campo 2: 87EB4AEBEA342368