



(12) SØKNAD

(11) 20200810

(13) A1

NORGE

(19) NO

(51) Int Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 38/16 (2006.01)

C07K 16/24 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20200810	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2006.10.24 PCT/US2006/041479
(22)	Inng.dag	2020.07.10	(85)	Videreføringsdag	2020.07.10
(24)	Løpedag	2006.10.24	(30)	Prioritet	2005.10.26, US, 60/730,435 2005.12.02, US, 60/742,125
(41)	Alm.tilgj	2008.07.22			
(62)	Avdelt fra	20082344, 2008.05.23			
(71)	Innehaver	Novartis AG, Lichtstrasse 35, 4056 BASEL, Sveits			
(72)	Oppfinner	Hermann Gram, Am Bischofsacker 20, 79576 WEIL AM RHEIN, Tyskland Phil Lowe, c/o Novartis Pharma AG, Postfach, 4002 BASEL, Sveits Thomas Jung, Leegasse 5/12, 1140 WIEN, Østerrike Timothy Wright, 471 Puritan Road, MA01907 SWAMPSCOTT, USA Trevor Mundel, 49 Hartwell Road, MA01741 CARLISLE, USA			
(74)	Fullmektig	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge			

(54)	Benevnelse	Ny anvendelse av IL-1beta forbindelser
(57)	Sammendrag	

Oppfinnelsen angår en ny anvendelse av IL-1 β ligand/IL-1 reseptorødeleggende forbindelser (her betegnet som "IL-1beta forbindelse"); slik som småmolekylære forbindelser som ødelegger IL-1 β ligand, IL-1 reseptorinteraksjonen, IL-1 β antistoffer eller IL-1 reseptor antistoffer, f.eks. IL-1 β bindende molekyler beskrives her, f.eks. antistoffer beskrives heri, f.eks. IL-1 β bindende forbindelser eller IL-1 reseptorbindende forbindelser, og/eller RNA forbindelser som reduserer enten IL-1 β ligander eller IL-1 reseptor protein nivåene, for behandling og/eller forebyggelse av auto-inflammatoriske syndromer, f.eks. juvenil reumatoid artritt syndrom eller voksen reumatoid artritt syndrom og oppfinnelsen angår også fremgangsmåter for behandling og/eller forebyggelse av auto-inflammatoriske syndromer, f.eks. juvenil reumatoid artritt syndrom eller voksen reumatoid artritt syndrom, hos pattedyr, spesielt menneske.

Anvendelse av IL-1beta forbindelser

- Denne oppfinnelsen angår en ny anvendelse av IL-1 β -ligand/IL-1 reseptor ødeleggende forbindelser (heretter betegnet som "IL-1beta-forbindelser"); slik som små molekyllære
- 5 forbindelser som ødelegger IL-1 β -ligand-IL-1 reseptorinteraksjonen, IL-1 β -antistoffer eller IL-1 reseptor antistoffer, f.eks. IL-1 β bindende molekyler beskrevet her i dokumentet, f.eks. antistoffer beskrevet her i dokument, f.eks. IL-1 β -bindende forbindelser eller IL-1-reseptorbindende forbindelser, og/eller RNA forbindelser som reduserer enten IL-1 β -ligander eller IL-1-reseptor proteinnivåene, for behandling
- 10 og/eller forebyggelse av auto-inflammatoriske syndromer, f.eks. juvenile reumatoid artritt eller voksen reumatoid artrittsyndrom og fremgangsmåter for behandling og/eller forebyggelse av auto-inflammatoriske syndromer, f.eks. juvenil reumatoid artritt eller voksen reumatoid artrittsyndrom, hos pattedyr, spesielt menneske.
- 15 Interleukin-1 β (IL-1beta eller IL-1 β eller interleukin-1 β har den samme betydning her i dokumentet) er en potent immunmodulator som medierer et bredt spekter av immun- og inflammatoriske responser. Uhensiktsmessig eller for høy produksjon av IL-1 β er forbundet med patologi til ulike sykdommer og forstyrrelser, slik som septikemi, septisk eller endotoksisk sjokk, allergier, astma, bentap, iskemi, slag, reumatoid artritt og andre
- 20 inflammatoriske forstyrrelser, Antistoffer mot IL-1 β er foreslått for anvendelse ved behandling av IL-1-medierte sykdommer og forstyrrelser; se f.eks. WO 95/01997 og diskusjonen i introduksjonen av denne og WO 02/16436 der innholdet er inkorporert ved referanse.
- 25 I henhold til foreliggende oppfinnelse er det nå overraskende funnet at IL-1 β -forbindelser er nyttige ved forebyggelse og behandling av auto-inflammatoriske syndromer hos pasienter slik som pattedyr, spesielt menneske. Auto-inflammatoriske syndromer ifølge oppfinnelsen er f.eks., men ikke begrenset til, en gruppe av nedarvede forstyrrelser kjennetegnet ved tilbakevendende episoder av inflammasjon, som i
- 30 motsetning til autoimmune sykdommer mangler høye titer av autoantistoffer eller antigenspesifikke T-celler. Videre viser auto-inflammatoriske syndromer ifølge oppfinnelsen økt IL-1beta sekresjon (tap av den negative regulatoriske rolle av pyrin som synes mutert i disse sykdommer), NFkB aktivering og svekket leukocyt apoptose). Auto-inflammatoriske syndromer ifølge oppfinnelsen er Muckle-wells syndromer
- 35 (MWS), familiær forkjølelses auto-inflammatorisk syndrom (FCAS), neonatal-start multisystem inflammatorisk syndrom (NOMID), kronisk barne neurologisk, kunnøs, artikulær (CINCA) syndrom, familiær Middelhavsfeber (FMF) og/eller visse former for

juvenil artritt slik som systemisk start idiopatisk juvenil artritt (SOIJA), visse former for juvenil reumatoid artritt slik som systemisk start idiopatisk juvenil reumatoid artritt og/eller visse former for voksen reumatoid artritt. Fortrinnsvis er IL-1beta forbindelsene nyttig ved forebyggelse og behandling juvenil reumatoid artritt, voksen reumatoid artritt og/eller Muckle Wells syndrom.

I henhold til de spesielle funn ifølge foreliggende oppfinnelse, angis følgende utførelsesformer:

- 10 Foreliggende oppfinnelse angår sammensetninger og fremgangsmåter for forebyggelse og behandling av auto-inflammatoriske syndromer hos pattedyr, inkludert menneske, Følgelig er IL-1-beta forbindelsene også nyttig for fremstilling av medisiner og medikamenter for behandling av auto-inflammatoriske syndromer. I et spesifikt aspekt, omfatter slike medisiner og medikamenter en terapeutisk effektiv mengde av IL-1beta
- 15 forbindelser sammen med en farmasøytisk akseptabel bærer.

- I en annen utførelsesform frembringer oppfinnelsen anvendelse av et antistoff som spesifikt binder til en hvilken som helst av de ovenfor eller nedenfor beskrevne polypeptider, f.eks. IL-1 β ligand eller IL-1 β reseptor, fortrinnsvis IL-1 β ligand, ved
- 20 forebyggelse og/eller behandling av juvenil reumatoid artritt eller voksen reumatoid artritt syndrom og/eller andre auto-inflammatoriske syndromer og/eller Muckle Wells syndrom. Eventuelt er antistoffet et monoklonalt antistoff, humanisert antistoff, antistoff fragment eller enkeltkjedet antistoff. I et aspekt angår foreliggende oppfinnelse et isolert antistoff som binder en IL-1 β ligand. I et annet aspekt inhiberer eller nøytraliserer
 - 25 antistoffet aktiviteten til en IL-1 β ligand (et antagonist antistoff). I et annet aspekt er antistoffet et monoklonalt antistoff, som har enten en human eller ikke-human komplementaritetens bestemmende region (CDR) rest og humant rammeverks region (FR) rester. Antistoffet kan være merket og kan være immobilisert på et fast støttemateriale. I et ytterligere aspekt er antistoffet et antistoff fragment, et monoklonalt antistoff, et
 - 30 enkeltkjedet antistoff eller anti-idiotypisk antistoff. I en annen utførelsesform frembringer foreliggende oppfinnelse en sammensetning omfattende et anti-IL-1 β ligand eller IL-1 β reseptor antistoff, fortrinnsvis et anti-IL-1 β legand antistoff, i blanding med en farmasøytisk akseptabel bærer. I et aspekt omfatter sammensetningen en terapeutisk effektiv mengde av antistoffet. Fortrinnsvis er sammensetningen steril.
 - 35 Sammensetningen kan administreres i form av en flytende farmasøytisk formulering, som kan konserveres for å oppnå forlenget holdbarhet. Alternativt er antistoffet et

monoklonalt antistoff, et antistoff fragment, et humanisert antistoff eller et enkeltkjedet antistoff.

I en annen utførelsesform frembringer oppfinnelsen anvendelse av IL-1 β forbindelser, f.eks. IL-1beta antistoff, som er i stand til å forstyrre den positive IL-1beta feedback sløyfen in vivo; ved forebyggelse og/eller behandling av juvenil reumatoid artritt eller voksen reumatoid artritt, og/eller andre auto-inflammatoriske syndromer og/eller Muckle Wells syndrom. Denne positive feedback in vivo fører til selvbevarende overproduksjon av IL-1beta hos disse pasientene.

10

I en annen utførelsesform frembringer oppfinnelsen anvendelse av en IL-1beta forbindelse, f.eks. IL-1beta antistoff, ved sykdommer med en mutasjon i MEFV genet, lokalisert på kromosom 16p13 og som koder for proteinet pyrin (også kjent som marenosttrin). Pyrin uttrykkes i granulocytter, monocytter og synovial fibroblaster. Pyrin er involvert i prosessering av IL-1beta.

15

I en ytterligere utførelsesform angår oppfinnelsen en produsert artikkel, omfattende: (a) en sammensetning omfattende en anti-IL-1beta ligand, eller IL-1beta reseptor antistoff, fortrinnsvis et anti-IL-1 β ligand antistoff; (b) en beholder inneholdende nevnte sammensetning; og (c) en merkelapp festet til nevnte beholder, eller et pakningsinnlegg inkludert i nevnte beholder som beskriver anvendelse av nevnte anti-IL-1 β ligand eller IL-1 β reseptor antistoff, fortrinnsvis et anti-IL-1 β ligand antistoff, for behandling av juvenil reumatoid artritt syndrom eller voksen reumatoid artritt syndrom og/eller andre auto-inflammatoriske syndromer og/eller Muckle Wells syndrom. Sammensetningene kan omfatte en terapeutisk effektiv mengde av et anti-IL-1 β ligand eller IL-1 β reseptor antistoff, fortrinnsvis en anti-IL-1 β ligand.

20

25

I en annen utførelsesform frembringer oppfinnelsen en fremgangsmåte eller anvendelse som definert ovenfor, omfattende samtidig administrering av en terapeutisk effektiv mengde av IL-1 β forbindelser i fri form eller salt form, fortrinnsvis i en farmasøytisk akseptabel avleveringsform slik som intravenøs eller subkutan, og en annen medikamentsubstans, der den andre medikamentsubstansen er en anti-inflammatorisk forbindelse i fri form eller salt form.

30

I en ytterligere utførelsesform er IL-1beta forbindelsen ifølge oppfinnelsen en IL-1 β bindende molekyl som omfatter et antigenbindende sete omfattende minst et immunglobulin tungt kjede variabelt domene (V_H) som omfatter i rekkefølge de

35

hypervariable regionene CDR1, CDR2 og CDR3, nevnte CDR1 har aminosyresekvensen Val-Tyr-Gly-Met- Asn, nevnte CDR2 har aminosyresekvensen Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr- Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly, og nevnte CDR3 har aminosyresekvensen Asp-Leu-Arg-Thr- Gly-Pro; og direkte ekvivalenter av disse.

I en annen utførelsesform er IL-1beta forbindelsen anvendt ifølge oppfinnelsen et IL-1 β bindende molekyl som omfatter minst et immunglobulin lett kjede variabelt domene (V_L) som omfatter i rekkefølge de hypervariable regionene CDR1', CDR2' og CDR3', der CDR1' har aminosyresekvensen Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His nevnte CDR2' har aminosyresekvensen Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser og nevnte CDR3' har aminosyresekvensen His-Gln-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro og direkte ekvivalenter av disse.

I en annen utførelsesform er IL-1 β forbindelsen som anvendes ifølge foreliggende oppfinnelse et enkelt domene IL-1 β bindende molekyl omfattende en isolert immunglobulin tung kjede omfattende et tung kjede variabelt domene (V_H) som definert ovenfor, f.eks. for fremstilling av et medikament for behandling av juvenil reumatoid artritt syndrom eller voksen reumatoid artritt syndrom og/eller andre auto-inflammatoriske syndromer, fortrinnsvis juvenil reumatoid artritt syndrom eller voksen reumatoid artritt syndrom og/eller Muckle Wells syndrom.

I en ytterligere utførelsesform er IL-1beta forbindelsen som anvendes ifølge oppfinnelsen et IL-1 β bindende molekyl omfattende både tung (V_H) og lett kjede (V_L) variable domener der nevnte IL-1 β bindende molekyl omfatter minst et antigenbindende sete omfattende:

- a) et immunglobulin tung kjede variabelt domene (V_H) som omfatter i rekkefølge de hypervariable regionene CDR1, CDR2 og CDR3, der nevnte CDR1 har aminosyresekvensen av Val-Tyr-Gly-Met-Asn, nevnte CDR2 har aminosyresekvensen Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly og nevnte CDR3 har aminosyresekvensen av Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro, og
- b) et immunglobulin lett kjede variabelt domene (V_L) som omfatter i rekkefølge de hypervariable regioner CDR1', CDR2' og CDR3', der CD1' har aminosyresekvensen Arg-Ala-Ser-Gln-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His, nevnte CDR2' har aminosyresekvensen Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser og nevnte CDR3' har aminosyresekvensen His-Gln-Ser-Ser-Leu-Pro; og direkte ekvivalenter av disse.

Med mindre annet er antydnet er enhver polypeptid kjede her i dokumentet beskrevet ved å en aminosyresekvens som starter ved den N-terminale ende og slutter ved den C-terminale ende. Når det antigenbindende sete omfatter både V_H og V_L domener, kan disse være plassert på det samme polypeptid molekylet eller, fortrinnsvis, hvert domene kan være på en forskjellig kjede, der V_H domenet er del av en immunglobulin tung kjede eller fragment av dette, og V_L er en del av en immunglobulin lett kjede eller fragment av dette.

Ved "IL-1 β bindende molekyl" menes ethvert molekyl som er i stand til å binde IL-1 β liganden enten alene eller assosiert med andre molekyler. Bindingsreaksjonen kan vises ved standard metoder (kvalitative analyser) inkludert for eksempel en bioanalyse for bestemme inhibisjonen av IL-1 β binding til dens reseptor eller enhver type bindingsanalyse, med referanse til en negativ kontrolltest der et antistoff av ubeslektet spesifisitet men av samme isotype, f.eks. et anti-CD25 antistoff anvendes. Fortrinnsvis kan bindingen av IL-1 β bindingsmolekyl ifølge oppfinnelsen til IL-1 β vises i en kompetitiv bindingsanalyse.

Eksempler på antigen bindingsmolekyler inkluderer antistoffer produsert av B-celler eller hybridomer og kimære, CDR-podede eller humane antistoffer eller et hvilket som helst fragment av disse, f.eks. F(ab')₂ og Fab fragmenter, så vel som enkelt kjedet eller enkelt domene antistoffer.

Et enkelt kjedet antistoff består av de variable domenene til de tunge og lette kjeder av et antistoff kovalent bundet med en peptidlinker og består vanligvis av fra 10 til 30 aminosyrer, fortrinnsvis 15 til 25 aminosyrer. En slik struktur inkluderer derfor ikke den konstante delen av de tunge og lette kjeder og det antas at de små peptidspacerne bør være mindre antigene enn en hel konstant del. Ved "kimære antistoff" menes et antistoff der de konstante regionene til tunge eller lette kjeder eller begge er av human opprinnelse, mens de variable domenene av både tunge og lette kjeder er av ikke-human (f.eks. murin) opprinnelse eller av human opprinnelse men avledes fra et forskjellig humant antistoff. Ved "CDR-podede antistoff" menes et antistoff der de hypervariable regionene (CDR) er avledet fra et donorantistoff, slik som et ikke-humant (f.eks. murint) antistoff eller et forskjellig humant antistoff, mens alle eller vesentlig alle de andre delene av immunglobulinet f.eks. de konstante regionene og de høyt konserverte delene av de variable domenene, dvs. rammeverksregionene, er avledet fra et akseptor antistoff, f.eks. et antistoff av human opprinnelse. Et CDR-podet antistoff kan imidlertid inneholde noen få aminosyrer av donorsekvensen i rammeverksregionene, for eksempel

- i de delene av rammeverksregionene som ligger nær de hypervariable regionene. Ved "humane antistoff" menes et antistoff der de konstante og variable regioner til både de tunge og lette kjeder er av human opprinnelse, eller vesentlig identisk med sekvensene av human opprinnelse, ikke nødvendigvis fra det samme antistoffet og inkluderer
- 5 antistoffet fremstilt av mus der musegenet til immunglobulin variable og konstante deler er erstattet av dens tilsvarende humane, f.eks. som beskrevet i generelle termer i EP 0546073 B1, USP 5545806, USP 5569825, USP 5625126, USP 5633425, USP 5661016, USP 5770429, EP 0 438474 B1 og EP 0 463151 B1.
- 10 Særlig foretrukne IL-1 β bindingsmolekyler ifølge oppfinnelsen er humane antistoffer spesielt ACZ 885 antistoffet som heretter som beskrives i eksemplene og i WO 02/16436.

De foretrukne antistoffer ifølge oppfinnelsen er følgelig de variable domener av både

15 tunge og lette kjeder av human opprinnelse, for eksempel de av ACZ 885 antistoffer som er vist i SEQ ID NO: 1 og SEQ ID NO: 2. De konstante region domener omfatter fortrinnsvis også egnede humane konstant region domener, for eksempel beskrevet i "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Kabat E.A. et al., US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health.

20

Hypervariable regioner kan være forbundet med en hvilken som helst type rammeverksregioner, selv om de av human opprinnelse er foretrukket. Egnede rammeverksregioner er beskrevet i Kabat E.A. et al., ibid. Det foretrukne tung kjede rammeverk er et humant tung kjede rammeverk, for eksempel det til ACZ 885

25 antistoffet som er vist i SEQ ID NO: 1. Det består i rekkefølge av FR1, FR2, FR3 og FR4 regioner. På tilsvarende måte viser SEQ ID NO: 2 det foretrukne ACZ 885 lett kjede rammeverket som består, i rekkefølge, av FR1', FR2', FR3' og FR4' regioner.

Følgelig frembringer oppfinnelsen også et IL-1 β bindende molekyl som omfatter minst

30 et antigenbindende sete omfattende enten et første domene med en aminosyresekvens vesentlig identisk med den vist i SEQ ID NO: 1 startende med aminosyren i posisjon 1 og avsluttes med aminosyren i posisjon 118 eller et første domene som beskrevet ovenfor og et andre domene med en aminosyresekvens vesentlig identisk med den vist i SEQ ID NO: 2, startende med aminosyren i posisjon 1 og avsluttende med aminosyren i

35 posisjon 107.

Monoklonale antistoffer fremstilt mot et protein naturlig funnet hos alle mennesker utvikles typisk i et ikke-humant system, f.eks. i mus, og er som sådan typisk ikke-humane proteiner. Som en direkte konsekvens av dette frembringer et xenogent antistoff produsert av et hybridom, når dette administreres til menneske, en uønsket

5 immunrespons som hovedsakelig medieres av den konstante delen av det xenogene immunglobulinet. Dette begrenser klart anvendelsen av slike antistoffer da de ikke kan administreres over en lengre tidsperiode. Derfor er det særlig foretrukket å anvende enkeltkjedede, enkeltdomene, kimære, CDR-podede eller spesielt humane antistoffer som sannsynligvis ikke vil frembringe en vesentlige allogen respons når de

10 administreres til mennesker.

I lys av det foregående er et mer foretrukket IL-1 β bindende molekyl ifølge oppfinnelsen utvalgt fra et humant anti-IL-1 β antistoff som minst omfatter:

a) en immunglobulin tung kjede eller fragment av dette som omfatter (i) et variabelt

15 domene omfattende i rekkefølge de hypervariable regionene CDR1, CDR2, og CDR3 og (ii) den konstante delen eller fragment av dette av en human tung kjede; der CDR1 har aminosyresekvensen Val-Tyr-Gly-Met-Asn, der CDR2 har aminosyresekvensen Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly, og der CDR3 har aminosyresekvensen Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro; og

20 b) en immunglobulin lett kjede eller fragment av dette som omfatter (i) et variabelt domene omfattende i rekkefølge de hypervariable regionene og eventuelt også CDR1', CDR2' og CDR3' hypervariable regioner og (ii) den konstante delen eller fragment av dette av en human lett kjede, der CDR1' har aminosyresekvensen Arg-Ala-Ser-Gin-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His, der CDR2' har aminosyresekvensen Ala-Ser-Gin-Ser-Phe-Ser

25 og der CDR3' har aminosyresekvensen His-Gin-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro; og direkte ekvivalenter av disse.

Alternativt kan et IL-1 β bindende molekyl ifølge oppfinnelsen utvelges fra et enkelt kjedet bindende molekyl som omfatter et antigen bindesete omfattende:

30 a) et første domene omfattende i rekkefølge de hypervariable regioner CDR1, CDR2 og CDR3, der CDR1 har aminosyresekvensen Val-Tyr-Gly-Met-Asn, der CDR2 har aminosyresekvensen Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly, og der CDR3 har aminosyresekvensen Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro,

35 b) et annet domene omfattende de hypervariable regionene CDR1', CDR2' og CDR3', der CDR1' har aminosyresekvensen Arg-Ala-Ser-Gin-Ser-Ile-Gly-Ser-

Ser-Leu-His, der CDR2' har aminosyresekvensen Ala-Ser-Gin-Ser-Phe-Ser og CDR3' har aminosyresekvensen His-Gin-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro og

- c) en peptidlinker som bindes enten til den N-terminale enden av det første domene og til den C-terminale enden av det andre domene eller til den C-terminale enden av første domenet og til den N-terminale enden av det andre domenet, og direkte ekvivalenter av disse.

Slik det er velkjent kan små endringer i en aminosyresekvens slik som deleisjon, addisjon eller substitusjon av en, noen få eller også mange aminosyrer føre til en allel form av det opprinnelige protein som har vesentlig identiske egenskaper.

Følgelig betyr betegnelsen "direkte ekvivalenter av disse" enten ethvert enkelt domene IL-1 β bindende molekyl (molekyl X),

- (i) der de hypervariable regionene CDR1, CDR2 og CDR3 sett under ett er minst 80% homologe, fortrinnsvis minst 90% homologe, helst minst 95% homologe med de hypervariable regionene slik de er vist ovenfor, og
- (ii) som er i stand til å inhibere bindingen av IL-1 β til dens reseptor i hovedsak i samme omfang som et referansemolekyl som har rammeverksregioner som er identiske til de molekyl X men som har hypervariable regioner CDR1, CDR2 og CDR 3 identiske med de ovenfor,
- eller ethvert IL-1 β bindende molekyl som har minst to domener per bindingssete (molekyl X')

- (i) der de hypervariable regionene CDR1, CDR2, CDR3, CDR1', CDR2' og CDR3' sett under et er minst 80% homologe, fortrinnsvis 90% homologe, helst minst 95% homologe med de hypervariable regionene slik de er vist ovenfor, og
- (ii) som er i stand til å inhibere binding av IL-1 β til dens reseptor hovedsakelig i samme omfang som et referansemolekyl som har rammeverksregioner og konstante deler identiske med molekyl X', men som har hypervariable regioner CDR1, CDR2, CDR3, CDR1', CDR2' og CDR3' identiske med de vist ovenfor.

I et ytterligere aspekt ifølge oppfinnelsen frembringes også et IL-1beta bindende molekyl som omfatter både tung (V_H) og lett kjede (V_L) variable domener der nevnte IL-1beta bindende molekyl omfatter minst et antigenbindende sete omfattende:

- a) et immunglobulin tung kjede variabelt domene (V_H) som omfatter i rekkefølge regionene CDR1, CDR2 og CDR3, der CDR1 har aminosyresekvensen Ser-Tyr-Trp-Ile-Gly, der CDR2 har aminosyresekvensen Ile-Ile-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ser-Asp-Thr-Arg-Tyr-Ser-Pro-Ser-Phe-Gln-Gly og der CDR3 har aminosyresekvensen Tyr-Thr-Asn-Trp-Asp-Ala-Phe-Asp-Ile, og
- b) et immunglobulin lett kjede variabelt domene (V_L) som omfatter en CDR3' hypervariabel region med aminosyresekvensen Gln-Gln-Arg-Ser-Asn-Trp-Met-Phe-Pro;
- og direkte ekvivalenter av disse.

10

I ytterligere aspekt ifølge oppfinnelsen frembringes et IL-1 β bindende molekyl omfattende både tung (V_H) og lett (V_L) kjedevARIABLE domener der nevnte IL-1 β bindende molekyl omfatter minst et antigenbindende sete omfattende:

- a) et immunglobulin tung kjede variabelt domene (V_H) som omfatter i rekkefølge de hypervariable regionene CDR1, CDR2 og CDR3, der CDR1 har aminosyresekvensen Ser-Tyr-Trp-Ile-Gly, der CDR2 har aminosyresekvensen Ile-Ile-Tyr-Pro-Ser-Asp-Thr-Arg-Tyr-Ser-Pro-Ser-Phe-Gln-Gly og CDR3 har aminosyresekvensen Tyr-Thr-Asn-Trp-Asp-Ala-Phe-Asp-Ile, og
- b) et immunglobulin lett kjede variabelt domene (V_L) som omfatter i rekkefølge de hypervariable regionene CDR1', CDR2' og CDR3', der CDR1' har aminosyresekvensen Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Ala, CDR2' har aminosyresekvensen Asp-Ala-Ser-Asn-Arg-Ala-Thr og CDR3' har aminosyresekvensen Gln-Gln-Arg-Ser-Asn-Trp-Met-Phe-Pro;
- og direkte ekvivalenter av disse.

25

I foreliggende beskrivelse er aminosyresekvensene minst 80% homologe med hverandre hvis de har minst 80% identiske aminosyrerester i en tilsvarende posisjon når sekvensen sammenliknes optimalt, gap eller innføyer i aminosyresekvensen telles som ikke-identiske rester.

30

- Inhibisjon av bindingen til IL-1 β til dens reseptor kan hensiktsmessig undersøkes i ulike analyser inkludert slike analyser som er beskrevet i WO 02/16436. Med betegnelsen "i samme omfang" menes at referansemolekylene og de ekvivalente molekyler utviser, på et statistisk grunnlag, hovedsakelig identiske IL-1 β bindende inhibisjonskurver i en av analysene angitt ovenfor. For eksempel IL-1 β bindende molekyl ifølge oppfinnelsen har typisk IC_{50} for inhibisjon av bindingen av IL-1 β til dens reseptor som er innenfor ± 5

35

av den for, fortrinnsvis hovedsakelig det samme som, IC_{50} til det tilsvarende referansemolekylet når det analyseres som beskrevet ovenfor.

Analysen som anvendes kan for eksempel være en analyse av kompetitiv inhibisjon av
 5 binding av IL-1 β ved løselige IL-1 reseptorer og IL-1 β bindende molekyler ifølge oppfinnelsen.

IL-1 β bindende molekyl for anvendelse ifølge oppfinnelsen er helst et humant IL-1 antistoff som omfatter minst en tung kjede som omfatter:

- 10 a) et variabelt domene med en aminosyresekvens hovedsakelig identisk til den vist i SEQ ID NO: 1 startende med aminosyren posisjon 1 og avsluttende med aminosyren i posisjon 118 og den konstante delen av et human tung kjede, og
- b) en lett kjede som omfatter et variabelt domene med en aminosyresekvens hovedsakelig identisk med den vist i SEQ ID NO: 2 startende med aminosyren i
 15 posisjon 1 og avsluttende med aminosyren i posisjon 107 og den konstante delen av en human lett kjede.

Helst er det IL-1 β bindende molekylet for anvendelse ifølge oppfinnelsen ACZ 885 (se eksemplet).

20

Den konstante delen av en human tung kjede kan være av γ_1 , γ_2 , γ_3 , γ_4 , μ , α_1 , α_2 δ eller ϵ type, fortrinnsvis av γ typen, helst av γ_1 typen, mens den konstante delen av en human lett kjede kan være av χ eller λ typen (som inkluderer λ_1 , λ_2 og λ_3 subtypene), men er fortrinnsvis av χ typen. Aminosyresekvensen til alle disse konstante delene er angitt i

25

Kapat et al ibid.

Et IL-1 β bindende molekyl ifølge oppfinnelsen kan fremstilles ved rekombinante DNA teknikker som f.eks. beskrevet i WO 02/16436.

- 30 I en annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen kan IL-1 β forbindelsen være antistoffer som har bindingsspesifisiteter for det antigene epitopet til humant IL-1 β som inkluderer sløyfen omfattende Glu 64 residiet av modent human IL-1 β (residiet Glu 64 av modent IL-1 β tilsvarer residiet 180 av den humane IL-1 β forløperen). Dette epitopet er utenfor gjenkjenningssitetet til IL-1 β reseptoren og det er derfor mest overraskende at
 35 antistoffer mot dette epitopet, f.eks. ACZ 885 antistoffet, er i stand til å inhibere bindingen av IL-1 β til dens reseptor. Følgelig er anvendelsen av slike antistoffer for behandling av juvenil reumatoid artritt og voksen reumatoid artritt og/eller auto-

inflammatoriske syndromer og/eller Muckle Wells syndrom nytt og er innbefattet innenfor rammen av foreliggende oppfinnelse.

Derfor inkluderes i et ytterligere aspekt av oppfinnelsen, anvendelsen av et antistoff mot
 5 IL-1 β som har antigen bindingspesifisitet for et antigen epitop av humant IL-1 β som inkluderer sløyfen omfattende residiet Glu 64 av modent humant IL-1 β og som er i stand til å inhibere bindingen av IL-1 β til dens reseptor for behandling av juvenil reumatoid artritt eller voksen reumatoid artritt og/eller autoinflammatorisk syndrom og/eller Muckle Wells syndrom.

10

I et annet aspekt av oppfinnelsen inkluderes:

- i) anvendelse av et antistoff mot IL-1 β , som har antigen bindingspesifisitet for et antigen epitop av modent humant IL-1 β som inkluderer sløyfen omfattende Glu 64 og som er i stand til å inhibere bindingen av IL-1 β til dens reseptor, for forebyggelse
 15 og/eller behandling av juvenilt reumatoid artritt syndrom eller voksen reumatoid artritt syndrom og/eller auto-inflammatorisk syndrom og/eller Muckle Wells syndrom,
- ii) en fremgangsmåte for å forebygge og/eller behandle juvenil reumatoid artritt syndrom eller voksen reumatoid artritt syndrom og/eller auto-inflammatorisk syndrom og/eller Muckle Wells syndrom hos en pasient som omfatter administrering til pasienten
 20 av en effektiv mengde av et antistoff mot IL-1 β som har antigenbindende spesifisitet for en antigen epitop av modent humant IL-1 β som inkluderer sløyfen omfattende Glu 64 og som er i stand til å inhibere bindingen av IL-1 β til dens reseptor;
- iii) en farmasøytisk sammensetning omfattende et antistoff mot IL-1 β , som har antigenbindende spesifisitet for en antigen epitop av moden human IL-1 β som
 25 inkluderer sløyfen omfattende Glu 64 og som er i stand til å inhibere bindingen av IL-1 β til dens reseptor, i kombinasjon med en farmasøytisk akseptabel eksipens, fortynningsmiddel eller bærer, for behandling av juvenil reumatoid artritt syndrom eller voksen reumatoid artritt syndrom og/eller auto-inflammatorisk syndrom og/eller Muckle Wells syndrom,
- iv) anvendelse av et antistoff mot IL-1 β som har antigenbindende spesifisitet for en antigen epitop av moden human IL-1 β som inkluderer sløyfen omfattende Glu 64 og som er i stand til å inhibere bindingen av IL-1 β til dens reseptor, for fremstilling av et medikament for behandling av juvenil reumatoid artritt syndrom eller voksen reumatoid artritt syndrom og/eller auto-inflammatoriske syndromer og/eller Muckle Wells
 30 syndrom.

35

For hensikte ifølge foreliggende oppfinnelse er et antistoff ”i stand til å inhibere bindingen av IL-1 β ” dersom antistoffet er i stand til å inhibere bindingen av IL-1 β til dens reseptor hovedsakelig i samme omfang som ACZ 885 antistoffet, dvs. har en dissosiasjons likevektkonstant (K_D) målt f.eks. i en standard BIAcore analyse som

5 beskrevet i eksemplet på 10 nM eller lavere, f.eks. 1 nM eller lavere, fortrinnsvis 100 pM eller lavere, helst 50 pM eller lavere.

I et ytterligere aspekt av oppfinnelsen frembringes dermed anvendelse av et antistoff mot IL-1 β som har en K_D for binding til IL-1 β på ca. 10 nM, 1 nM, fortrinnsvis 100

10 pM, helst 50 pM eller mindre for behandling av juvenil reumatoid artritt eller voksen reumatoid artritt syndrom og/eller auto-inflammatoriske syndromer. Dette aspekt ifølge oppfinnelsen inkluderer også anvendelsesmetoder og sammensetninger for slike høyaffinitets antistoffer, som beskrevet ovenfor for antistoffer mot IL-1 β som har bindingsspesifisitet for en antigen determinat av modent humant IL-1 β som inkluderer

15 sløyfen omfattende Glu 64.

I foreliggende beskrivelse omfatter frasen ”juvenil reumatoid artritt eller voksen reumatoid artritt syndrom og/eller auto-inflammatoriske syndromer” alle sykdommer og medisinske tilstander som er del av juvenil reumatoid artritt syndrom eller voksen

20 reumatoid artritt syndrom og/eller auto-inflammatoriske syndromer, enten direkte eller indirekte, i sykdommen eller den medisinske tilstanden, inkludert årsaken, utviklingen, progresjonen, varigheten eller patologien av sykdommen eller tilstanden.

I foreliggende beskrivelse omfatter frasen ”Muckle Wells syndrom” (også ”MWS”) alle

25 sykdommer og medisinske tilstander som er en del av ”Muckle Wells syndrom”, enten direkte eller indirekte, i sykdommen eller den medisinske tilstanden, inkludert årsaken, utviklingen, progresjonen, varigheten eller patologien av sykdommen eller tilstanden.

Forbindelsene med formel I kan administreres som den eneste aktive ingrediens eller i

30 forbindelse med f.eks. som en adjuvans til, andre medikamenter, f.eks. immunsuppressive eller immunmodulerende midler eller andre anti-inflammatoriske stoffer, f.eks. ved behandling eller forebyggelse av allo- eller xenograft akutt eller kronisk avstøtning eller inflammatorisk eller autoimmune forstyrrelser, eller et kjemoterapeutisk middel, f.eks. en malign celle anti-proliferativt middel. Antistoffene

35 ifølge oppfinnelsen kan f.eks. anvendes i kombinasjon med en kalsineurin inhibitor, f.eks. syklosporin A eller FK 506; en mTOR inhibitor, f.eks. rapamycin, 40-O-(2-hydroksyetyl)-rapamycin, CCI779, ABT578, AP23573, AP23464, AP23675, AP23841 ,

TAFA-93, biolimus-7 eller biolimus-9; et askomycin med immunsuppressive egenskaper, f.eks. ABT-281, ASM981, etc.; kortikosteroider, syklofosamid; azatiopren; metotreksat; leflunomid; mizoribin; mycofenolsyre eller salt; mycofenolat mofetil; 15-deoksyspergualin eller en immunsuppressiv homolog, analog eller derivat

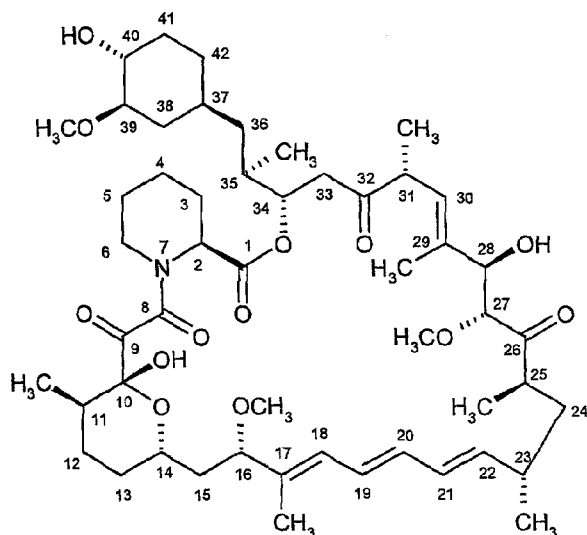
5 derav; en PKC inhibitor, f.eks. som beskrevet i WO 02/38561 eller WO 03/82859 f.eks. forbindelsen ifølge eksempel 56 eller 70; en JAK3 kinaseinhibitor, f.eks. N-benzyl-3,4-dihydrokso- benzyliden-cyanoacetamid -cyano-(3,4-dihydrokso)-[N-benzylcinnamamid (Tyrphostin AG 490), prodigiosin 25-C (PNU156804), [4-(4'-hydroksofenyl)-amino-6,7-dimetoksoquinazolin] (WHI-P131), [4-(3'-brom-4'-hydroksofenyl)-amino-6,7-

10 dimetoksoquinazolin] (WHI-P154), [4-(3'-5'-dibrom-4'-hydroksofenyl)-amino-6,7-dimetoksoquinazolin] WHI-P97, KRX-211, 3- {(3R,4R)-4-metyl-3-[metyl-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-amino]-piperidin-1-yl}-3-okso- propionitril, i fri form eller i farmasøytisk akseptabel saltform, f.eks. mono-citrat (også kalt CP-690,550), eller en forbindelse som beskrevet i WO 04/052359 eller WO 05/066156; immunsuppressive

15 monoklonale antistoffer, f.eks. monoklonale antistoffer mot leukocyt reseptorer, f.eks. MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD52, CD58, CD80, CD86 eller deres ligander; andre immunmodulerende forbindelser, f.eks. et rekombinant bindingsmolekyl med minst en del av det ekstracellulære domene til CTLA4 eller en mutant av dette, f.eks. en minst ekstracellulær del av CTLA4 eller mutant av denne

20 bundet til en ikke-CTLA4-proteinsekvens f.eks. CTLA4 Ig (f.eks. betegnet ATCC 68629) eller en mutant av denne, f.eks. LEA29Y; adhesjons molekyl inhibitorer, f.eks. LFA-1 antagonist, ICAM-1 eller 3-antagonister, VCAM-4 antagonist eller VLA-4 antagonist; paclitaxel, gemcitabin, cisplatinum, doxorubicin eller 5-fluorouracil; eller et anti-infeksjonsmiddel. Immunmodulerende medikamenter som er antatt å være nyttig

25 i kombinasjon med en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse inkluderer f.eks. mediatorer, f.eks. inhibitorer av mTOR aktivitet, inkludert rapamycin med formel



- Og rapamycin derivaer, f.eks. inkludert
- 40-O-alkyl-rapamycin derivativer, slik som 40-O-hydroxyalkyl-rapamycin derivater, slik som
- 5 40-O-(2-hydroksy)-etyl-rapamycin (everolimus),
 - 32-deokso-rapamycin derivativer og 32-hydroksy-rapamycin derivater, slik som 32-deoksorapamycin,
 - 16-O-substituerte rapamycin derivativer slik som 16-pent-2-ynyloksy-32-deoksorapamycin, 16-pent-2-ynyloksy-32 (S or R)-dihydro-rapamycin, 16-pent-2-ynyloksy-32(S or R)-dihydro-40-O-
 - 10 (2-hydroksyetyl)-rapamycin, rapamycin derivater som er asylatert med oksyengrupp i posisjon av 40, f.eks. 40-[3-hydroksy-2-(hydroksy-metyl)-2-metylpropanoat]-rapamycin (også kjent som CCI779), rapamycin derivater som er substituert 40 posisjon av heterosyklyl, e.g. 40-epi-(tetrazolyl)-rapamycin (også kjent som ABT578), de såkalte rapaloger, f.eks. som beskrevet i WO9802441, WO0114387 og WO0364383, slik som
 - 15 AP23573, og forbindelser beskrevet under navnet TAFA-93 og biolimus (biolimus A9).

- I foreliggende beskrivelse henviser betegnelsen "behandling" eller "behandle" til både profylaktisk eller forebyggende behandling så vel som kurerende eller
- 20 sykdomsmodifiserende behandling, inkludert behandling av pasienter som risikerer å få sykdommen eller mistenkes å kunne få sykdommen så vel som pasienter som er syke eller er blitt diagnostisert til å lide av en sykdom eller medisinsk tilstand, og inkluderer suppressjon av kliniske tilbakefall. En vellykket behandling ifølge oppfinnelsen inkluderer også tilbakegang av alle reparerbare symptomer men ikke tilbakegang av
 - 25 ikke-reparerbare symptomer. Et av symptomene på Muckle Wells er f.eks. progressiv nervedøvheter som normalt ikke kan repareres og følgelig er det ingen forventning om at

dette symptomet kan behandles. Andre reparerbare symptomer på Muckle Wells slik som hudrødme, muskelsmerte, feber, utmattelse eller konjungtivitt kan imidlertid fullstendig forsvinne ved en vellykket behandling ifølge oppfinnelsen. Et annet mål på vellykket behandling er nedgang i relevante biomarkører for auto-inflammatoriske syndromer, f.eks. Muckle Wells, dvs. nedgang i serum amyloid protein (SAA) og c-reaktivt protein (CRP) til normalt område, dvs. < 10 mg per L serum hos pasientene.

I foreliggende beskrivelse er sykdommen "Muckle Wells" blant andre (molekylær patologi) bestemt ifølge dens kliniske symptomer som er akutte inflammatoriske feberepisoder av artritt og urtikaria, progressiv nervedøvhets og eventuell langtids multiorgan amyloidose (omtrent 25% av tilfellene). Molekylær patologi er forårsaket av en eller flere mutasjoner i MEFV genet, lokalisert på kromosom 16p13, som koder for proteinet kalt pyrin.

IL-1 β bindende molekyler som definert ovenfor, i særdeleshet IL-1 β bindende molekyler ifølge det første og andre aspekt ifølge oppfinnelsen er antistoffer som har bindingsspesifisitet for det antigene epitopet til modent humant IL-1 β som inkluderer sløyfen omfattende Glu 64, i særdeleshet antistoffer som er i stand til å inhibere bindingen av IL-1 β til dens reseptor og antistoffer mot IL-1 β som har en K_D forbindelse til IL-1 β på ca. 10 nM, 1 nM, fortrinnsvis 100 pM, helst 50 pM eller mindre, og er her i dokumentet betegnet som antistoffer ifølge oppfinnelsen.

I en annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er ytterligere anvendelser av IL-1 β forbindelsene, f.eks. antistoffene ifølge oppfinnelsen, som følger:

Forebyggelse og behandling av inflammatorisk tarmsykdom (IBD), juvenil artritt, reaktiv artritt, ankyloserende spondylitt, koronar syndrom, arteriell restenose, cystisk fibrose, Alzheimers sykdom, multipel myelom, arteriosklerose, pulmonær fibrose, Muckle Wells og kronisk obstruktiv pulmonær sykdom (COPD).

For alle indikasjoner beskrevet her i denne beskrivelsen (indikasjoner ifølge oppfinnelsen), vil de hensiktsmessige doser selvfølgelig variere avhengig av, for eksempel den spesielle IL-1 β forbindelsen, f.eks. antistoff ifølge oppfinnelsen som skal anvendes, verten, administreringsmåten og egenskapene og alvorlighetsgraden av tilstanden som skal behandles. Ved profylaktisk anvendelse er imidlertid tilfredstillende resultater vanligvis antydning å være oppnådd ved doser fra ca. 0,05 mg til ca. 10 mg per kilo kroppsvekt, mer vanlig fra ca. 0,1 mg til ca. 0,5 mg per kg kroppsvekt. Antistoffet

ifølge oppfinnelsen administreres mest hensiktsmessig parenteralt, intravenøst, f.eks. inn i antecubital eller annen perifer vene, intramuskulært eller subkutant.

I en annen utførelsesform angår oppfinnelsen en overraskende hyppighet av dosering for terapeutisk anvendelse, dvs. behandlingsregime med IL-1beta forbindelsene, fortrinnsvis IL-1beta antistoffene, helst ACZ 885 (ved en typisk dose, f.eks. mellom ca. 0,1 mg til ca. 50 mg, mer foretrukket mellom 0,5 mg til 20 mg, enda mer foretrukket fra 1 mg til 10 mg ACZ 885 per kilo kroppsvekt til pasienten) kan være en gang per uke eller mindre hyppig, mer foretrukket en gang hver 2 uke eller mindre hyppig, enda mer foretrukket en gang hver 3 uke eller mindre hyppig, eller en gang per måned eller mindre hyppig, en gang hver 2 måned eller mindre hyppig, en gang hver 3 måned eller mindre hyppig, en gang per 4 måned eller mindre hyppig, en gang per 5 måned eller mindre hyppig, og aller helst en gang per 6 måned eller mindre hyppig. Mest foretrukket er en gang per måned.

Farmasøytiske sammensetninger ifølge oppfinnelsen kan fremstilles på vanlig måte. En sammensetning ifølge oppfinnelsen frembringes fortrinnsvis i lyofilisert form. For umiddelbar administrering løses den opp i en egnet vanlig bærer, for eksempel sterilt vann for injeksjon eller sterilt bufret fysiologisk saltvann. Dersom det vurderes å være ønskelig å lage opp en løsning av et større volum for administrering ved infusjon i stedet for som bolusinjeksjon, er det fordelaktig å omkorporere humant serum albumin eller pasientens eget hepariniserte blod til saltvannet ved tidspunktet for formulering. Tilstedeværelse av et overskudd av slikt fysiologisk inert protein forebygger tap av antistoff ved adsorpsjon til veggene av beholderen og rørsystem som anvendes i forbindelse med infusjonsløsningen. Dersom albumin anvendes er en egnet konsentrasjon fra 0,5 til 4,5 vekt-% av saltløsningen.

Oppfinnelsen beskrives ytterligere ved illustrering ved de følgende eksempler.

EKSEMPLER

Eksempel 1: ACZ 885

Struktur og tillaging av ACZ 885 er f.eks. beskrevet i WO 02/16436. I korthet er de aminoterminalse sekvensene til tung og lett kjede variable domener og de tilsvarende DNA sekvenser vist i SEQ ID NO: 1 og SEQ ID NO: 2 nedenfor, der CDR er vist i kursiv og understreket type.

ACZ 885 Tung kjede variabel region SEQ ID NO: 1

```

TCAG
Q - 1

GTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCC
V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S - 21

TGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGTGTTATGGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCA
C A A S G F T F S V Y G M N W V R Q A P - 41

GGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATTTGGTATGATGGAGATAATCAATACTATGCA
G K G L E W V A I I W Y D G D N Q Y Y A - 61

GACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAAGAACGCTGTATCTG.
D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L - 81

CAAATGAACGGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGAGAGATCTTAGG
Q M N G L R A E D T A V Y Y C A R D L R - 101

ACTGGCCCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTC
T G P F D Y W G Q G T L V T V S S 118

```

ACZ 885 Lett kjede variabel region SEQ ID NO: 2

```

TGAA
E - 1

ATTGTGCTGACTCAGTCTCCAGACTTTTCACTGTGTGACTCCAAAGGAGAAAGTCACCATC
I V L T Q S P D F Q S V T P K E K V T I - 21

ACCTGCCGGGCCAGTCAGAGCATTGGTAGTAGCTTACACTGGTACCAGCAGAAACCAGAT
T C R A S Q S I G S S L H W Y Q Q K P D - 41

CAGTCTCCAAAGCTCCTCATCAAGTATGCTTCCCAGTCTTCTCAGSGGTCCCTCGAGG
Q S P K L L I K Y A S Q S F S G V P S R - 61

TTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTACCCCTCACCATCAATAGCCTGGAAGCTGAA
F S G S G S G T D F T L T I N S L E A E - 81

GATGCTGCAGCGTATTACTGTTCATCAGAGTAGTAGTTTACCATTCACTTTTCGGCCCTGGG
D A A A Y Y C H Q S S S L P F T F G P G - 101

ACCAAAGTGGATATCAAA - 107
T K V D I K

```

Eksempel 2: Biokjemiske og biologiske data for ACZ 885

- Det monoklonale antistoffet ACZ 885 er funnet å nøytralisere aktiviteten til interlukin-1 β in vitro. Det monoklonale antistoffet er videre kjennetegnet for en binding til
- 5 rekombinant humant IL-1 β ved overflate plasmon resonansanalyse.
- Nøytraliseringsmåten vurderes ved kompetitive bindingsstudier ved løselige IL-1 reseptorer. Den biologiske aktiviteten til antistoffet ACZ 885 mot rekombinant og naturlig fremstilt IL-1 β bestemmes i primære humane celler, som responderer på stimulering med IL-1 β .

10

Bestemmelse av dissosiasjons likevektskonstanten

Assosiasjons- og dissosiasjons hastighetskonstantene for bindingene av rekombinant humant IL-1 β til ACZ 885 bestemmes ved overflate plasmon resonansanalyse. ACZ 885 immobiliseres og binding av rekombinant IL-1 β i et konsentrasjonsområde fra 1 til

4 nM måles ved overflate plasmonresonans. Det valgte format representerer en monovalent interaksjon og følgelig tillates behandling av bindingshendelsen av IL-1 β til ACZ 885 i henhold til 1:1 støkiometri. Dataanalysene utføres ved hjelp av en BIAevaluation programvare.

5

	k_{på} [10⁵/Ms]	k_{av} [10⁵/s]	K_D [pM]	
ACZ 885	11,0 +/- 0,23	3,3 +/-0,27	30,5 +/-2,6	n=22

Konklusjon: ACZ 885 binder til rekombinant humant IL-1beta med svært høy affinitet.

Eksempel 3: Kliniske forsøk med ACZ 885

10 For å vurdere egnetheten til en IL-1beta forbindelse, f.eks. ACZ 885, utføres en ”open-label”, enkelt sentral dose titreringsstudie av ACZ 885 (humant anti-IL-1beta monoklonalt antistoff) for å vurdere den kliniske effektiviteten, sikkerheten, farmakokinetikken og farmakodynamikken hos pasienter med MW syndrom, kjennetegnet ved NALP3 mutasjoner.

15

Pasientene behandles med en enkelt infusjonsdose av ACZ 885 (19 mg/kg i.v.). Klinisk respons måles ved forbedring av symptomer (f.eks. hudrødme, muskelsmerte, feber, utmattelse) og reduksjon i akutt faseprotein serum amyloid protein (SAA) og c-reaktivt proteion (CRP). I tillegg vurderes responsen på behandling ved analyse av mRNA
20 oppnådd fra perifere blodceller. En annen behandling (1 mg/kg i.v.) gis etter tilbakevending av kliniske symptomer. Resultater: Klinisk tilbakegang av symptomer (feber, rødhet, konjungtivitt) innen 3 dager, og reduksjon av CRP og SAA til normalområdet (< 10 mg/L) i pasienter. Klinisk tilbakegang av symptomer ved den første infusjonen varer i minst 134 dager, typisk mellom 160 og 200 dager. Ved andre
25 behandling med lavere dose responderer pasientene med forbedring av symptomene og nøytralisering av akutt faseproteiner.

Analyse av mRNA oppnådd fra perifere blodceller viste nedregulering av transkripsjonen av IL-1 β og IL-1 β induserte gener innen 24 timer ved behandling med
30 ACZ 885. Dette antyder at ACZ 885 er i stand til å forstyrre en positiv feedbaksøyfe in vivo som fører til selvoppretholdt overproduksjon av IL-1 β i disse pasientene. Dette syn er også støttet av intielt kjennetegn på PK/PD effekter av ACZ 885 hvilket viser blokkering av produksjon av IL-1 β ved behandling med ACZ 885 i disse pasientene.

Denne spesielle evne til ACZ 885 kan bidra (være årsaken) til dens langvarige kliniske effekt.

P a t e n t k r a v

1.

Anvendelse av IL-1beta forbindelse for fremstilling av et medikament for behandling av
5 auto-inflammatorisk syndrom.

2.

Fremgangsmåte for behandling av auto-inflammatorisk syndrom hos en pasient som har
behov for dette som omfatter administrering til pasienten av en effektiv mengde av en
10 IL-1beta forbindelse.

3.

Farmasøytisk sammensetning for anvendelse ved behandling av auto-inflammatorisk
syndrom omfattende en IL-1beta forbindelse, i kombinasjon med en farmasøytisk
15 akseptabel eksipient, fortynningsmiddel eller bærer.

4.

Anvendelse, fremgangsmåte for behandling eller farmasøytisk sammensetning ifølge
krav 1, 2 eller 3, der IL-1beta forbindelsene er IL-1beta bindende molekyler som
20 omfatter et antigenbindende sete omfattende minst et immunoglobulin tung kjede
variabelt domene (V_H) som omfatter i rekkefølge de hypervariable regionene CDR1,
CDR2 og CDR3, der CDR1 har aminosyresekvensen Val-Tyr-Gly-Met-Asn, CDR2 har
aminosyresekvensen Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-
Lys-Gly og CDR3 har aminosyresekvensen Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro og direkte
25 ekvivalenter av disse.

5.

Anvendelse, fremgangsmåte for behandling eller farmasøytisk sammensetning ifølge
kravene 1 til 4, der IL-1beta forbindelsene er IL-1beta bindende molekyler som omfatter
30 både tung (V_H) og lett kjede (V_L) variable domener der nevnte IL-1beta bindende
molekyl omfatter minst et antigenbindende sete omfattende:

a) et immunoglobulin tung kjede variabelt domene (V_H) som omfatter i rekkefølge de
hypervariable regioner CDR1, CDR2 og CDR3, der CDR1 har aminosyresekvensen
Val-Tyr-Gly-Met-Asn, CDR2 har aminosyresekvensen Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-
35 Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly og CDR3 har aminosyresekvensen Asp-
Leu-Arg-Thr-Gly-Pro, og

b) et immunglobulin lett kjede variabelt domene (V_L) som omfatter i rekkefølge de hypervariable regionene CDR1', CDR2' og CDR3', der CDR1' har aminosyresekvensen Alg-Ara-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His, CDR2' har aminosyresekvensen Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser og CDR3' har aminosyresekvensen Gln-
 5 Gln-Arg-Ser-Asn-Trp-Met-Phe-Pro;
 og direkte ekvivalenter av disse.

6.
 Anvendelse, fremgangsmåte for behandling eller farmasøytisk sammensetning ifølge
 10 kravene 1 til 5, der IL-1beta forbindelsene er IL-1beta bindende molekyler som omfatter minst et antigenbindende sete omfattende enten et første domene med en aminosyresekvens hovedsakelig identisk med den vist i SEQ ID NO: og et annet domene med en aminosyresekvens hovedsakelig identisk med den vist i SEQ ID NO: 2.

15 7.
 Anvendelse, fremgangsmåte for behandling eller farmasøytisk sammensetning ifølge kravene 1 til 6, der det auto-inflammatoriske syndrom er juvenil reumatoid artritt syndrom eller voksen reumatoid artritt syndrom eller Muckle Wells syndrom.

20 8.
 Anvendelse, fremgangsmåte for behandling eller farmasøytisk sammensetning ifølge krav 1 til 7, der IL-1beta forbindelsene tilføres en gang hver uke eller sjeldnere.

9.
 25 Anvendelse, fremgangsmåte for behandling eller farmasøytisk sammensetning ifølge krav 1 til 7, der applikasjonen av IL-1beta forbindelsene er subkutan.