(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 689 322**

(51) Int. CI.:

A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/26 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.03.2009 PCT/IB2009/050852**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **11.09.2009 WO09109911**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.03.2009 E 09716493 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.09.2018 EP 2265287**

(54) Título: **Métodos para tratar el dolor crónico**

(30) Prioridad:

04.03.2008 US 33558

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.11.2018

(73) Titular/es:

TEVA PHARMACEUTICALS INTERNATIONAL GMBH (100.0%)
Schlüsselstrasse 12
8645 Jona, CH

(72) Inventor/es:

CORRADINI, LAURA;
MACHIN, IAN;
POULSEN, KRISTIAN TODD;
SHELTON, DAVID LOUIS y
ZELLER, JOERG

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCION

Métodos para tratar el dolor crónico

Campo de la invención

La invención se refiere a un anticuerpo anti-CGRP para su uso en la prevención y/o tratamiento de dolor crónico y/o síntomas de dolor crónico, y a un método para tratar y/o prevenir el dolor crónico y/o síntomas de dolor crónico usando un anticuerpo anti-CGRP.

Antecedentes de la invención.

El dolor crónico es un dolor de larga duración que persiste más tiempo que el curso temporal de la curación natural de la lesión o enfermedad causante subyacente. No cumple ninguna función beneficiosa o protectora y se estima que 2,7 millones de personas en el Reino Unido están inválidas debido a afecciones de dolor crónico.

El dolor por cáncer es uno de los tipos más comunes de dolor crónico y muestra componentes nociceptivos debido al crecimiento tumoral y los componentes neuropáticos debido al daño nervioso inducido por el tumor. Implica además daño estructural, atrapamiento y daño nervioso, procesos inflamatorios que llevan a la alteración del metabolismo tisular normal, la producción de prostaglandinas y citoquinas inflamatorias y daño tisular.

Hasta la fecha, los principales analgésicos empleados para el tratamiento del dolor crónico son fármacos opiáceos y antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Ambas clases de fármacos pueden producir efectos secundarios graves; Los AINE pueden provocar ulceración gástrica y daño renal, los opiáceos pueden provocar náuseas, estreñimiento, confusión y problemas de dependencia. Los opioides no producen alivio del dolor en todos los individuos que padecen de dolor crónico, incluso a dosis altas y el desarrollo de la resistencia analgésica a los opioides complica su utilidad para la terapia a largo plazo. En particular, el tratamiento del dolor por cáncer requiere el uso de niveles inaceptablemente altos de opiáceos que traen consigo efectos secundarios y por lo menos el 20% de los pacientes tratados aún tienen dolor incontrolable.

Por consiguiente, existe una necesidad médica crítica para identificar nuevos compuestos farmacéuticamente activos que interfieran con pasos clave del proceso de dolor crónico y particularmente para el tratamiento y/o prevención del dolor nociceptivo crónico y/o síntomas de dolor nociceptivo crónico.

Sorprendentemente, hemos descubierto que la administración de un anticuerpo anti-CGRP es eficaz, con un sitio de acción periférico, en la prevención y/o el tratamiento del dolor crónico y, en particular, del dolor nociceptivo crónico, como el dolor por cáncer.

El CGRP (péptido relacionado con el gen de calcitonina) es un neuropéptido de 37 aminoácidos que actúa como un neurotransmisor en el sistema nervioso central. Se une con alta afinidad al receptor de CGRP, receptor similar a receptor de calcitonina (CRLR), activando la producción de adenilato ciclasa y proteína quinasa A.

Los antagonistas de CGRP selectivos de moléculas pequeñas, administrados por vía espinal que penetran centralmente han demostrado ser útiles en el tratamiento de afecciones dolorosas neuropáticas y nociceptivas (Adwanikar et al, Pain 2007) sugiriendo que la eliminación del CGRP endógeno en la médula espinal tiene un efecto antinociceptivo. Además, la administración intratecal de antisuero contra CGRP ha demostrado que reduce el comportamiento nociceptivo en modelos de roedores de artritis (Kuraishi, Y., et. al Neurosci. lett (1998) 92, 325 - 329).

Sorprendentemente, hemos descubierto que la administración de un anticuerpo anti-CGRP es eficaz, con un sitio de acción periférico, en la prevención y/o el tratamiento del dolor crónico y, en particular, del dolor nociceptivo crónico cuando se administra periféricamente. Esta vía de administración periférica proporciona una clara ventaja sobre el requisito de administrar anticuerpos por vía intratecal o espinal, un procedimiento con mayor riesgo e inconveniente.

Breve descripción de la Invención

La presente invención proporciona el uso de un anticuerpo antagonista anti-CGRP para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de dolor por cáncer crónico.

En una realización, el medicamento se prepara para ser administrado periféricamente.

En una realización, el anticuerpo antagonista anti-CGRP actúa periféricamente en la administración.

Descripción de las Figuras

Figura 1. Efecto del anticuerpo G2 sobre la hipersensibilidad mecánica a 8 gramos de estímulos de von Frey en un modelo de dolor por cáncer de hueso. Las ratas inyectadas con MRMT-1 se trataron con anticuerpo G2 o vehículo (PBS + 0,01% de Tween20) el día 9 después de la cirugía. Los grupos se mantuvieron sanos durante el período postoperatorio en todo momento, lo que se demostró por el aumento de peso postoperatorio creciente (datos no mostrados). Los datos son media ± SEM de 7-9 ratas por grupo. *p <0,05 frente a grupo tratado con vehículo en cada punto temporal.

Figura 2. Efecto del anticuerpo G2 sobre la hipersensibilidad mecánica a 15 gr de estímulos de von Frey en el modelo de dolor por cáncer de hueso. Las ratas inyectadas con MRMT-1 se trataron con G2 o vehículo (PBS + 0,01% de Tween20) el día 9 después de la cirugía. Los datos son media ± SEM de 7-9 ratas por grupo. *p <0,05 frente a grupo tratado con vehículo en cada punto temporal.

Figura 3. Efecto del anticuerpo G2 en la ambulación medido por varilla de rotación. Se exploraron dos puntos finales. La latencia para caer como mediciones de las deficiencias inducidas por compuestos en la coordinación motriz (A), y la puntuación de la varilla de rotación, como mediciones de dolor evocado por ambulación (B) en el modelo de dolor por cáncer de hueso. Las ratas inyectadas con MRMT-1 se trataron con anticuerpo G2 o vehículo (PBS + 0,01% de Tween20) el día 9 después de la cirugía. Los datos son media ± SEM de 7-9 ratas por grupo. *p <0,05 frente a grupo tratado con vehículo en cada punto temporal.

Figura 4: Datos del ensayo de unión que demuestran que el anticuerpo G1 inhibe la unión de α-CGRP al receptor de CGRP1.

Figura 5a: nivel en suero de concentración de anti-CGRP (ug/ml) frente al tiempo después de la administración IV de 1 Omg/kg, medido por ELISA anti-IgG.

Figura 5b: nivel sérico de concentración de anti-CGRP (ug/ml) frente al tiempo después de la administración IV de 10, 30, 100 mg/kg, medido por ELISA anti-IgG.

Figura 6 Exploración de alanina usando un fragmento de CGRP C-terminal (CGRP 25-37). El cambio en la afinidad se expresa en veces de pérdida de afinidad y muestra que el anticuerpo G1 anti-CGRP se une a la región C-terminal de α-CGRP humano.

Figura 7: Competencia de solución por Biacore: se usaron CGRP, fragmentos de CGRP o péptidos relacionados en secuencia con CGRP para determinar la especificidad del anticuerpo G1.

Figura 8: Secuencias de CGRP de humano, mono cynomolgus, rata, ratón, perro y conejo. Los residuos no conservados entre especies están subrayados, el epítopo del anticuerpo G1 está en negrita.

Figura 9: Datos que muestran que G1 inhibe el brote neurogénico en la piel a partir de los 90 minutos después del tratamiento. G1 se administró por administración intravenosa (1 ml/kg). Los datos son de 6-8 o 13 ratas por grupo. *p = 0,05, **p = 0,01 frente al grupo tratado con vehículo (solución salina tamponada con fosfato) en cada punto temporal (AVOVA).

Tabla 1: Kd e IC50 de anticuerpos anti-CGRP medidos a 25º C contra α-CGRP humano [muMab7E9 = precursor murino de G1. Su K_D para β-CGRP de rata = 1 nM. RN4901 = herramienta murina, que reconoce el mismo epítopo que G1 pero mostró las mismas afinidades y selectividad en ratas (β-CGRP K_D = 17 nM); G1 = anticuerpo humanizado a partir de muMab7E9 (K_D para βCGRP de rata = 0,1 nM).]
Tabla 2: afinidades de unión a G1 según se determina mediante Biacore
Tabla 3: anticuerpo G1 y variantes del anticuerpo G1 con sus afinidades para tanto a-CGRP de rata como con a-CGRP humano

Descripción de la Invención

Técnicas Generales

La puesta en práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología molecular (incluyendo técnicas recombinantes), microbiología, biología celular, bioquímica e inmunología, que están dentro de los conocimientos de la técnica. Tales técnicas se explican completamente en la bibliografía, como, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, segunda edición (Sambrook et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather y P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, y D.G. Newell, eds., 1993-1998) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of 4 Experimental Immunology (D.M. Weir y

C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller y M.P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow y D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J.D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); y Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita et. al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993).

Definiciones

Un "anticuerpo" es una molécula de inmunoglobulina capaz de unirse específicamente a un objetivo, como un carbohidrato, polinucleótido, lípido, polipéptido, etc., a través de por lo menos un sitio de reconocimiento de antígeno, localizado en la región variable de la molécula de inmunoglobulina. Como se usa en la presente, el término abarca no solo anticuerpos policlonales o monoclonales intactos, sino también fragmentos de los mismos (como Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, dAb), anticuerpos de cadena sencilla (ScFv), mutantes de los mismos, anticuerpos quiméricos, diacuerpos, proteínas de fusión que comprenden una porción de anticuerpo, y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprenda un sitio de reconocimiento de antígeno. Un anticuerpo incluye un anticuerpo de cualquier clase, como IgG, IgA, o IgM (o subclase de los mismos), y el anticuerpo no necesita ser de ninguna clase particular. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo del dominio constante de sus cadenas pesadas, las inmunoglobulinas pueden asignarse a diferentes clases. Hay cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de ellas pueden dividirse adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se llaman alfa, delta, épsilon, gamma y mu, respectivamente. Las estructuras de subunidades y configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas.

"Fv" es un fragmento de anticuerpo que contiene un sitio de reconocimiento y unión al antígeno completo. En una especie de Fv de dos cadenas, esta región consiste en un dímero de un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena ligera en asociación estrecha, no covalente. En una especie Fv de cadena sencilla, un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena ligera puede unirse covalentemente mediante un conector peptídico flexible de tal manera que las cadenas ligera y pesada se pueden asociar en una estructura dimérica análoga a la de una especie de Fv de dos cadenas. Es en esta configuración que las tres CDR de cada dominio variable interactúan para definir una especificidad de unión a antígeno en la superficie del dímero VH-VL. Sin embargo, incluso un solo dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende sólo 3 CDR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno,

El fragmento Fab también contiene el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante (CH1) de la cadena pesada. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab por la adición de unos pocos residuos en el extremo terminal carboxi del dominio CH1 de cadena pesada incluyendo una o más cisteínas de las regiones bisagra del anticuerpo. Un fragmento F(ab)2 es un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab enlazados mediante un puente disulfuro en la región bisagra.

Un anticuerpo puede tener uno o más sitios de unión (para combinarse con el antígeno). Si hay más de un sitio de unión, los sitios de unión pueden ser idénticos entre sí o pueden ser diferentes. Por ejemplo, una inmunoglobulina de origen natural tiene dos sitios de unión idénticos, un anticuerpo de cadena sencilla o un fragmento Fab tiene un sitio de unión, mientras que un anticuerpo "biespecífico" o "bifuncional" (diacuerpo) tiene dos sitios de unión diferentes, en términos de secuencia y/o reconocimiento de antígeno/epítopo.

Un "anticuerpo aislado" es un anticuerpo que (1) no está asociado con componentes asociados de forma natural, incluyendo otros anticuerpos asociados de forma natural, que lo acompañan en su estado nativo, (2) está libre de otras proteínas de la misma especie, (3) se expresa por una célula de una especie diferente, o (4) no aparece en la naturaleza.

Un "anticuerpo monoclonal" se refiere a una población de anticuerpos homogénea en la que el anticuerpo monoclonal está compuesto por aminoácidos (de origen natural y de origen no natural) que están implicados en la unión selectiva de un antígeno. Una población de anticuerpos monoclonales es altamente específica, estando dirigida contra un único sitio antigénico. El término "anticuerpo monoclonal" abarca no solo anticuerpos monoclonales intactos y anticuerpos monoclonales de longitud completa, sino también fragmentos de los mismos (tales como Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv), de cadena sencilla (ScFv), mutantes de los mismos, proteínas de fusión que comprenden una porción de anticuerpo, y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprenda un sitio de reconocimiento del antígeno de la especificidad requerida y la capacidad de unirse a un antígeno. No se pretende que esté limitado con respecto a la fuente del anticuerpo o la manera en que está hecho (por ejemplo, mediante hibridoma, selección de fagos, expresión recombinante, animales transgénicos, etc.).

Como se usa la presente, los anticuerpos "humanizados" se refieren a formas de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) que son inmunoglobulinas quiméricas específicas, cadenas de inmunoglobulina, o fragmentos de las mismas (como Fv, Fab, Fab', F(ab' 2 u otras subsecuencias de unión de anticuerpos) que contienen una secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. En su mayor parte, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las que los residuos de una región determinante de la complementariedad (CDR) del receptor están reemplazados por residuos de una CDR de una especie no humana (anticuerpo donante) como ratón, rata , o conejo que tiene la especificidad, afinidad y actividad biológica deseadas. En algunos casos, los residuos de la región marco (FR) de Fv de la inmunoglobulina humana se reemplazan por residuos no humanos correspondientes. Además, el anticuerpo humanizado puede comprender residuos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en las secuencias CDR o marco importadas, sino que se incluyen para refinar y optimizar más el rendimiento del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todos de por lo menos uno, y típicamente dos, dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a las de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las regiones FR son los de una secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado también comprenderá óptimamente por lo menos una porción de una región o dominio constante de inmunoglobulina (Fc), típicamente la de una inmunoglobulina humana. Los anticuerpos pueden tener regiones Fc modificadas como se describe en la WO 99/58572 . Otras formas de anticuerpos humanizados tienen una o más CDR (una, dos, tres, cuatro, cinco, seis) que están alteradas con respecto al anticuerpo original, que también se denominan una o más CDR "derivadas de" una o más CDR del anticuerpo original.

Como se usa en la presente, "anticuerpo humano" significa un anticuerpo que tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente a la de un anticuerpo producido por un humano y/o que se ha elaborado usando cualquiera de las técnicas para elaborar anticuerpos humanos conocidas en la técnica o divulgadas en la presente. Esta definición de un anticuerpo humano incluye anticuerpos que comprenden por lo menos un polipéptido de cadena pesada humana o por lo menos un polipéptido de cadena ligera humana. Uno de tales ejemplos es un anticuerpo que comprende polipéptidos de cadenas ligeras murinas y cadenas pesadas humanas. Los anticuerpos humanos pueden producirse usando varias técnicas conocidas en la técnica. En una realización, el anticuerpo humano se selecciona de una biblioteca de fagos, donde esa biblioteca de fagos expresa anticuerpos humanos (Vaughan et al., 1996, Nature Biotechnology, 14:309-314; Sheets et al., 1998, PNAS, (USA) 95:6157-6162; Hoogenboom y Winter, 1991, J. Mol. Biol., 227:381; Marks et al., 1991, J. Mol. Biol., 222:581). Los anticuerpos humanos también pueden elaborarse introduciendo loci de inmunoglobulina humana en animales transgénicos, por ejemplo, ratones en los que los genes de inmunoglobulina endógena se han inactivado parcial o completamente. Este enfoque se describe en las Patentes de Estados Unidos Nº 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; y 5.661.016. Alternativamente, el anticuerpo humano puede prepararse inmortalizando linfocitos B humanos que producen un anticuerpo dirigido contra un antígeno objetivo (tales linfocitos B pueden recuperarse de un individuo o pueden haber sido inmunizados in vitro). Ver, por ejemplo, Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., 1991, J. Immunol., 147 (1):86-95 ; y la Patente de Estados Unidos Nº 5.750.373.

Un anticuerpo de cadena sencilla (scFc) es un anticuerpo en el que las regiones VL y VH están emparejadas para formar una molécula monovalente a través de un conector sintético que les permite formarse como una cadena de proteínas individual (Bird et al Science, 242: 423-426 (1988) y Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883 (1988)).

Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes biespecíficos en los que los dominios VH y VL se expresan en una única cadena de polipéptidos, pero usando un conector que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, forzando de este modo a los dominios a emparejarse con dominios complementarios de otra cadena y creando dos sitios de unión a antígeno.

"Anticuerpos quiméricos" se refiere a aquellos anticuerpos en los que una porción de cada una de las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesadas y ligeras es homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o pertenecientes a una clase particular, mientras que el segmento restante de las cadenas es homólogo a las secuencias correspondientes en otro. Típicamente, en estos anticuerpos quiméricos, la región variable de ambas cadenas ligera y pesada imita las regiones variables de anticuerpos derivados de una especie de mamíferos, mientras que las porciones constantes son homólogas a las secuencias en anticuerpos derivados de otra. Una ventaja clara de tales formas quiméricas es que, por ejemplo, las regiones variables pueden derivarse convenientemente de fuentes actualmente conocidas usando hibridomas o células B fácilmente disponibles de organismos huésped no humanos en combinación con regiones constantes derivadas, por ejemplo, de preparaciones de células humanas. Mientras que la región variable tiene la ventaja de facilitar la preparación, y la especificidad no se ve afectada por su fuente, la región constante siendo humana, es menos probable que provoque una respuesta inmune de un sujeto humano cuando se inyectan los anticuerpos que la región constante de una fuente no humana. Sin embargo, la definición no está limitada a este ejemplo particular.

Una "región Fc funcional" posee por lo menos una función efectora de una región Fc de secuencia nativa.

Las "funciones efectoras" ejemplares incluyen el enlace C1q; la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC); la unión al receptor Fc; la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC); fagocitosis; regulación descendente de los receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de células B, BCR), etc. Tales funciones efectoras requieren generalmente que la región Fc se combine con un dominio de unión (por ejemplo, un dominio variable de anticuerpo) y pueden evaluarse usando diversos ensayos conocidos en la técnica para evaluar tales funciones efectoras de anticuerpos.

Una "región Fc de secuencia nativa" comprende una secuencia de aminoácidos idéntica a la secuencia de aminoácidos de una región Fc encontrada en la naturaleza. Una "región Fc variante" comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la de una región Fc de secuencia nativa en virtud de por lo menos una modificación de aminoácidos, pero retiene por lo menos una función efectora de la región Fc de la secuencia nativa. Preferiblemente, la región Fc variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácidos en comparación con una región Fc de la secuencia nativa o a la región Fc de un polipéptido original, por ejemplo de aproximadamente una a aproximadamente diez sustituciones de aminoácidos, y preferiblemente de aproximadamente una a aproximadamente cinco sustituciones de aminoácidos en una región Fc de la secuencia nativa o en la región Fc del polipéptido original. La región Fc variante poseerá preferiblemente por lo menos un 80% de identidad de secuencia con una región Fc de la secuencia nativa y/o con una región Fc de un polipéptido original, y lo más preferible por lo menos un 90% de identidad de secuencia con ella, más preferiblemente por lo menos un 95% de identidad de secuencia con ella.

Como se usa en la presente, "citotoxicidad mediada por células dependiente del anticuerpo" y "ADCC" se refieren a una reacción mediada por células en la que células citotóxicas no específicas que expresan receptores Fc (FcR) (por ejemplo, células asesinas naturales (NK), neutrófilos y macrófagos) reconocen anticuerpo unido en una célula objetivo y posteriormente provocan la lisis de la célula objetivo. La actividad de ADCC de una molécula de interés puede evaluarse usando un ensayo de ADCC in vitro, tal como el descrito en la Patente de Estados Unidos Nº 5.500.362 o 5.821.337. Las células efectoras útiles para tales ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y células NK. Alternativa, o adicionalmente, la actividad de ADCC de la molécula de interés puede evaluarse in vivo, por ejemplo, en un modelo animal como el divulgado en escrito en Clynes et al., 1998, PNAS (USA), 95:652-656.

Como se usa en la presente, "receptor Fc" y "FcR" describen un receptor que se une a la región Fc de un anticuerpo. El FcR preferido es un FcR humano de secuencia nativa. Además, un FcR preferido es uno que se une a un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases FcγRI, FcγRII y FcγRIII, incluyendo variantes alélicas y formas alternativamente cortadas y empalmadas de estos receptores. Los receptores de FcγRII incluyen FcγRIIA (un "receptor de activación") y FcγRIIB (un "receptor de inhibición"), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en los dominios citoplásmicos de los mismos. Los FcR se revisan en Ravetch y Kinet, 1991, Ann. Rev. Immunol., 9:457-92; Capel et al., 1994, Immunomethods, 4:25-34; y de Haas et al., 1995, J. Lab. Clin. Med., 126:330-41. "FcR" también incluye el receptor neonatal, FcRn, que es responsable de la transferencia de IgG maternas al feto (Guyer et al., 1976, J. Immunol., 117:587; and Kim et al., 1994, J. Immunol., 24:249).

"Citotoxicidad dependiente del complemento" y "CDC" se refieren a la lisis de un objetivo en presencia de complemento. La vía de activación del complemento se inicia mediante la unión del primer componente del sistema del complemento (C1q) a una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) formando un complejo con un antígeno análogo. Para evaluar la activación del complemento, puede realizarse un ensayo de CDC, por ejemplo, como se describe en Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods, 202:163 (1996).

Como se usa en la presente, los términos "G1" y "anticuerpo G1" se usan indistintamente para referirse a un anticuerpo producido por los vectores de expresión que tienen los números de depósito ATCC-PTA-6867 y ATCC-PTA-6866. La secuencia de aminoácidos de las regiones variables de la cadena pesada y de la cadena ligera se muestra en las SEQ ID Nº 1 y 2. Las porciones de CDR del anticuerpo G1 (incluyendo las CDR de Chothia y Kabat) se representan esquemáticamente en la Figura 5 de la WO2007/054809, cuyo contenido se incorpora en la presente como referencia en su totalidad. Los polinucleótidos que codifican las regiones variables de la cadena pesada y ligera se muestran en las SEQ ID Nº 9 y 10. La caracterización del anticuerpo G1 se describe en los Ejemplos de la WO2007/054809, cuyo contenido se incorpora en la presente como referencia en su totalidad. G1 es un anticuerpo bloqueante monoclonal humanizado (IgG2) que bloquea la unión y actividad del neuropéptido CGRP (a y b) y su efecto de vasodilatación neurogénica provocada por la liberación de CGRP. G1 es un anticuerpo antagonista anti-CGRP monoclonal IgG2Δa derivado del precursor del anticuerpo antagonista anti-CGRP murino, denominado muMAb7E9 identificado en una selección que usa células de bazo preparadas a partir de un ratón inmunizado con CGRP humano y de rata que se fusionaron con células de plasmocitoma murino. G1 se creó injertando las CDR derivadas de muMAb 7E9 de cadena ligera y pesada en la secuencia de la línea germinal humana más cercana seguido por la introducción de por lo menos 1 mutación en cada CDR y 2 mutaciones de marco en V_H. Se introdujeron dos mutaciones en el dominio Fc de G1 para suprimir la activación del receptor Fc humano. Se ha demostrado que G1 y muMab7E9 reconocen el mismo epítopo.

Como se usa en la presente, los términos "G2" y "anticuerpo G2" se usan indistintamente para referirse a un anticuerpo monoclonal de ratón CGRP anti-rata como se describe en Wong HC et al. Hybridoma 12:93-106 (1993). La secuencia de aminoácidos de las regiones variables de la cadena pesada y de la cadena ligera se muestran en las SEQ ID Nº 19 y 20. Los polinucleótidos que codifican las regiones variables de la cadena pesada y ligera se muestran en las SEQ ID Nº 27 y 28. Las porciones de CDR del anticuerpo G2 se proporciona en las SEQ ID Nº 21 a 26. G2 también ha demostrado que reconoce el mismo epítopo que G1.

Como se usa en la presente, la unión "inmunoespecífica" de anticuerpos se refiere a la interacción de unión específica del antígeno que tiene lugar entre el sitio de combinación del antígeno de un anticuerpo y el antígeno específico reconocido por ese anticuerpo (es decir, el anticuerpo reacciona con la proteína en un ELISA u otro inmunoensayo, y no reacciona detectablemente con proteínas no relacionadas).

Un epítopo que "se une específicamente", o "se une preferencialmente" (usados indistintamente en la presente) a un anticuerpo o un polipéptido es un término bien entendido en la técnica, y los métodos para determinar tal unión específica o preferencial también son bien conocidos en la técnica. Se dice que una molécula muestra "unión específica" o "unión preferencial" si reacciona o se asocia más frecuentemente, más rápidamente, con mayor duración y/o con mayor afinidad con una célula o sustancia particular que lo que lo hace con células o sustancias alternativas. Un anticuerpo "se une específicamente" o "se une preferencialmente" a un objetivo si se une con mayor afinidad, avidez, más fácilmente, y/o con una mayor duración de lo que se une a otras sustancias. También se entiende leyendo esta definición que, por ejemplo, un anticuerpo (o fracción o epítopo) que se une específica o preferencialmente a un primer objetivo puede unirse o no específica o preferencialmente a un segundo objetivo. Como tal, "unión específica" o "unión preferencial" no requiere necesariamente (aunque puede incluir) unión exclusiva. En general, pero no necesariamente, la referencia a unión significa unión preferencial.

Los términos "polipéptido", "oligopéptido", "péptido" y "proteína" se usan indistintamente en la presente para referirse a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados, y puede estar interrumpido por no aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero de aminoácido que se ha modificado de manera natural o por intervención; por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación o modificación, como la conjugación con un componente de marcado. También se incluyen dentro de la definición, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Se entiende que, como los polipéptidos de esta invención se basan en un anticuerpo, los polipéptidos pueden tener lugar como cadenas sencillas o cadenas asociadas.

"Polinucleótido" o "ácido nucleico", como se usan indistintamente en la presente, se refieren a polímeros de nucleótidos de cualquier longitud, e incluyen ADN y ARN. Los nucleótidos pueden ser desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos, nucleótidos o bases modificados, y/o sus análogos, o cualquier sustrato que pueda incorporarse en un polímero mediante ADN o ARN polimerasa. Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, como nucleótidos metilados y sus análogos. Si está presente, puede impartirse modificación a la estructura de nucleótidos antes o después del ensamblaje del polímero. La secuencia de nucleótidos puede interrumpirse por componentes no nucleotídicos. Un polinucleótido puede modificarse adicionalmente después de la polimerización, como mediante conjugación con un componente de marcado. Otros tipos de modificaciones incluyen, por ejemplo, "tapas", sustitución de uno o más de los nucleótidos de origen natural con modificaciones análogas internucleotídicas como, por ejemplo, aquellas con enlaces no cargados (por ejemplo, metilfosfonatos, fosfotriesteres, fosfoamidatos, cabamatos, etc.) y con enlaces cargados (por ejemplo, fosforotioatos, fosforoditioatos, etc.), aquellos que contienen fracciones colgantes como, por ejemplo, proteínas (por ejemplo, nucleasas, toxinas, anticuerpos, péptidos señal, ply-L-lisina, etc.), aquellos con intercaladores (por ejemplo, acridina, psoraleno, etc.), aquellos que contienen quelantes (por ejemplo, metales, metales radiactivos, boro, metales oxidantes, etc.), aquellos que contienen alquilantes, aquellos con enlaces modificados (por ejemplo, ácidos nucleicos alfa anoméricos, etc.), así como las formas no modificadas del polinucleótido(s). Además, cualquiera de los grupos hidroxilo ordinariamente presentes en los azúcares puede reemplazarse, por ejemplo, por grupos fosfonato, grupos fosfato, protegidos por grupos protectores estándar, o activarse para preparar enlaces adicionales a nucleótidos adicionales, o pueden conjugarse con soportes sólidos. El OH 5' y 3' terminal puede fosforilarse o sustituirse con aminas o fracciones de grupos de tapa orgánicos de 1 a 20 átomos de carbono. Otros hidroxilos también pueden derivatizarse a grupos protectores estándar. Los polinucleótidos también pueden contener formas análogas de azúcares de ribosa o desoxirribosa que son generalmente conocidos en la técnica incluyendo, por ejemplo, 2'- O-metil-, 2'-O-alil, 2'-fluoro o 2'-azido-ribosa, análogos de azúcar carbocíclicos, azúcares α-anoméricos, azúcares epiméricos como arabinosa, xilosas o lixosas, azúcares de piranosa, azúcares de furanosa, sedoheptulosas, análogos acíclicos y análogos de nucleósidos abásicos como ribósido de metilo. Uno o más enlaces fosfodiéster pueden reemplazarse por grupos de enlace alternativos. Estos grupos de enlace alternativos incluyen, pero no están limitados a, realizaciones en las que el fosfato se reemplaza por P(O)S ("tioato"), P(S)S ("ditioato"), "(O)NR_2 ("amidato"), P(O)R, P(O)OR', CO o CH_2 ("formacetal"), en los que cada R o R' es independientemente H o alquilo (1-20 C) sustituido o no sustituido que contiene opcionalmente un enlace éter (-O-), arilo, alquenilo, cicloalquilo, cicloalquenilo o araldilo. No todos los enlaces en un polinucleótido necesitan ser idénticos. La descripción anterior se aplica a todos los polinucleótidos

referidos en la presente, incluyendo ARN y ADN.

Una "región variable" de un anticuerpo se refiere a la región variable de la cadena ligera del anticuerpo o a la región variable de la cadena pesada del anticuerpo, ya sea solas o en combinación. Cada una de las regiones variables de la cadena pesada y ligera consiste de cuatro regiones marco (FR) conectadas por tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR) también conocidas como regiones hipervariables. Las CDR en cada cadena se mantienen en proximidad cercana por las FR y, con las CDR de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos. Hay por lo menos dos técnicas para determinar las CDR: (1) un enfoque basado en la variabilidad de secuencias de especies cruzadas (es decir, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5ª ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)); y (2) un enfoque basado en estudios cristalográficos de complejos antígeno-anticuerpo (Chothia et al. (1989) Nature 342:877; Al-lazikani et al (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948)). Como se usa en la presente, una CDR puede referirse a CDR definidas por cualquier enfoque o por una combinación de ambos enfoques.

Una "región constante" de un anticuerpo se refiere a la región constante de la cadena ligera del anticuerpo o a la región constante de la cadena pesada del anticuerpo, ya sea solas o en combinación.

Como se usa en la presente, un "anticuerpo antagonista anti-CGRP" (denominado indistintamente "anticuerpo anti-CGRP") se refiere a un anticuerpo que es capaz de unirse a CGRP e inhibir la actividad biológica de CGRP y/o la vía(s) secuencia abajo. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP abarca anticuerpos que bloquean, antagonizan, suprimen o reducen (incluyendo significativamente) la actividad biológica de CGRP. Para el propósito de la presente invención, se entenderá explícitamente que el término "anticuerpo antagonista anti-CGRP" abarca todos los términos, títulos, y estados funcionales anteriormente identificados y características por las que el CGRP mismo, una actividad biológica de CGRP, o las consecuencias de la actividad biológica, se anulan, disminuyen o neutralizan sustancialmente en cualquier grado significativo. Ejemplos de anticuerpos antagonistas anti-CGRP se proporcionan en la presente.

Como se usa en la presente, "sustancialmente puro" se refiere a material que es por lo menos un 50% puro (es decir, libre de contaminantes), más preferiblemente por lo menos un 90% puro, más preferiblemente por lo menos un 95% puro, más preferiblemente por lo menos un 98% puro, más preferiblemente por lo menos un 99% puro.

Una "célula huésped" incluye una célula individual o cultivo celular que puede ser o ha sido un receptor de vector(es) para la incorporación de insertos de polinucleótidos. Las células huésped incluyen la progenie de una célula huésped individual, y la progenie puede no ser necesariamente completamente idéntica (en morfología o en el complemento de ADN genómico) a la célula parental original debido a una mutación natural, accidental o deliberada. Una célula huésped incluye células transfectadas in vivo con un polinucleótido(s) de esta invención.

Como se usa en la presente, "tratamiento" es un enfoque para obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Para los propósitos de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no están limitados a, uno o más de los siguientes: mejora o alivio de cualquier aspecto del dolor crónico y/o síntoma del dolor crónico. Para los propósitos de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no están limitados a, uno o más de los siguientes: incluyendo disminución de la gravedad, alivio del dolor y/o un síntoma asociado con dolor crónico.

Una "cantidad eficaz" de fármaco, compuesto o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para efectuar los resultados beneficiosos o deseados incluyendo resultados clínicos como el alivio o la reducción en la sensación de dolor. Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones. Para los propósitos de esta invención, una cantidad eficaz de fármaco, compuesto, o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para tratar, mejorar, reducir la intensidad de y/o prevenir el dolor crónico o síntomas asociados con el dolor crónico. Como se entiende en el contexto clínico, una cantidad eficaz de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica puede lograrse o no junto con otro fármaco, compuesto o composición farmacéutica. Por tanto, una "cantidad eficaz" puede considerarse en el contexto de administrar uno o más agentes terapéuticos, y puede considerarse que un agente individual se da en una cantidad eficaz si, en conjunción con uno o más de otros agentes, puede haber o se logra un resultado deseable.

En una realización, "preparado para" en la presente significa que el medicamento está en forma de una unidad de dosificación o similar adecuadamente envasada y/o marcada para su uso en administración periférica.

"Reducir la incidencia" de dolor crónico y/o un síntoma asociado con dolor crónico significa cualquiera de reducir la gravedad (que puede incluir reducir la necesidad y/o cantidad de (por ejemplo, exposición) a otros fármacos y/o terapias usados generalmente para estas afecciones), duración y/o frecuencia.

"Mejorar" el dolor crónico y/o un síntoma asociado con el dolor crónico significa una disminución o mejora de uno o más síntomas del dolor crónico y/o síntomas asociados con el dolor crónico en comparación con la no

administración de un anticuerpo antagonista anti-CGRP. "Mejorar" también incluye acortar o reducir la duración de un síntoma.

"Paliar" el dolor crónico y/o un síntoma asociado con el dolor crónico significa disminuir la extensión de una o más manifestaciones clínicas no deseables de dolor crónico en un individuo o población de individuos tratados con un anticuerpo antagonista anti-CGRP de acuerdo con la invención.

Como se usa en la presente, "retrasar" el desarrollo del dolor crónico significa aplazar, dificultar, ralentizar, retrasar, estabilizar y/o posponer la progresión del dolor crónico y/o un síntoma asociado con el dolor crónico. Este retraso puede ser de varios períodos de tiempo, dependiendo del historial de la enfermedad y/o los individuos que se están tratando. Como es evidente para un experto en la técnica, un retraso suficiente o significativo puede, en efecto, abarcar la prevención, en que el individuo no desarrolla dolor crónico. Un método que "retrasa" el desarrollo del síntoma es un método que reduce la probabilidad de desarrollar el síntoma en un marco temporal dado y/o reduce la extensión de los síntomas en un marco temporal dado, en comparación con no usar el método. Tales comparaciones se basan típicamente en estudios clínicos, utilizando un número estadísticamente significativo de sujetos.

Una "muestra biológica" abarca una variedad de tipos de muestras obtenidas de un individuo y puede usarse en un ensayo de diagnóstico o monitorización. La definición abarca sangre y otras muestras de líquidos de origen biológico, muestras de tejido sólido como una muestra de biopsia o cultivos de tejido o células derivadas de los mismos, y la progenie de los mismos. La definición también incluye muestras que se han manipulado de alguna manera después de su obtención, como por tratamiento con reactivos, solubilización o enriquecimiento para ciertos componentes, como proteínas o polinucleótidos, o incrustación en una matriz semisólida o sólida con propósitos de seccionar. El término "muestra biológica" abarca una muestra clínica, y también incluye células en cultivo, sobrenadantes celulares, lisados celulares, suero, plasma, fluido biológico, y muestras de tejido.

Un "individuo" o "sujeto" es un vertebrado, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un humano. Los mamíferos incluyen, pero no están limitados a, animales de granja (como vacas), animales de deporte, mascotas (como gatos, perros y caballos), primates, ratones y ratas.

Como se usa en la presente, "vector" significa un constructo, que es capaz de administrar, y preferentemente expresar, uno o más genes o secuencias de interés en una célula huésped. Los ejemplos de vectores incluyen, pero no están limitados a, vectores virales, vectores de expresión de ADN o ARN desnudos, vectores de plásmidos, cósmidos o fagos, vectores de expresión de ADN o ARN asociados con agentes de condensación catiónicos, vectores de expresión de ADN o ARN encapsulados en liposomas y ciertas células eucariotas, como células productoras.

Como se usa en la presente, "secuencia de control de la expresión" significa una secuencia de ácido nucleico que dirige la transcripción de un ácido nucleico. Una secuencia de control de la expresión puede ser un promotor, tal como un promotor constitutivo o inducible, o un potenciador. La secuencia de control de la expresión está ligada operativamente a la secuencia de ácido nucleico a transcribir.

Como se usa en la presente, "portador farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier material que, cuando se combina con un ingrediente activo, permite que el ingrediente retenga actividad biológica y no sea reactivo con el sistema inmune del sujeto. Los ejemplos incluyen, pero no están limitados a, cualquiera de los portadores farmacéuticos estándar como una solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones como emulsión de aceite/agua y varios tipos de agentes humectantes. Los diluyentes preferidos para administración en aerosol o parenteral son solución salina tamponada con fosfato o solución salina normal (0,9%). Las composiciones que comprenden tales portadores se formulan por métodos convencionales bien conocidos (ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; y Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20ª Ed. Mack Publishing, 2000).

El término "administrado periféricamente" como se usa en la presente se refiere a la vía por la que se va a administrar una sustancia, medicamento y/o anticuerpo antagonista anti-CGRP, en particular significa no centralmente, no espinalmente, no intratecalmente, no administrado directamente en el SNC. El término se refiere a vías de administración distintas a las que se renuncian inmediatamente e incluye a través de una vía que es oral, sublingual, bucal, tópica, rectal, por inhalación, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intracardíaca, intraósea, intradérmica, intraperitoneal , transmucosa, vaginal, intravítrea, intraarticular, periarticular, local o epicutánea.

El término "actúa periféricamente" como se usa en la presente se refiere al sitio de acción de una sustancia, compuesto, medicamento y/o anticuerpo antagonista anti-CGRP que está dentro del sistema nervioso periférico en oposición al sistema nervioso central, dicho compuesto, medicamento y/o anticuerpo antagonista anti-CGRP estando limitado por la incapacidad para cruzar la barrera al SNC y al cerebro cuando se administra periféricamente. El término "penetra centralmente" se refiere a la capacidad de una sustancia para cruzar la barrera al cerebro o al SNC.

El término "K_{off}", como se usa en la presente, se pretende que se refiera a la constante de velocidad de disociación para la disociación de un anticuerpo del complejo anticuerpo/antígeno.

El término "K_d", como se usa en la presente, se pretende que se refiera referirse a la constante de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno.

La presente invención está dirigida a un medicamento para la prevención y/o el tratamiento del dolor por cáncer crónico. Además, se describen métodos para la prevención y/o el tratamiento del dolor por cáncer crónico en un individuo.

En un primer aspecto, la invención proporciona el uso de un anticuerpo antagonista anti-CGRP para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento del dolor por cáncer crónico. De acuerdo con una realización preferida, el medicamento se prepara para la administración periférica o el medicamento se administra periféricamente.

En un segundo aspecto, la invención proporciona un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso en la prevención y/o el tratamiento de dolor por cáncer crónico. De acuerdo con una realización preferida, el anticuerpo se prepara para administración periférica o el anticuerpo se administra periféricamente.

En un tercer aspecto, la divulgación proporciona el uso de un anticuerpo antagonista anti-CGRP para la fabricación de un medicamento para mejorar, controlar, reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión de dolor crónico y/o síntomas de dolor crónico, en donde el medicamento se prepara para administración periférica o en donde el medicamento se administra periféricamente. En la alternativa de este aspecto, la invención proporciona un anticuerpo antagonista anti-CGRP para uso en mejorar, controlar, reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión de dolor crónico y/o síntomas de dolor crónico, en donde el anticuerpo se prepara para administración periférica o en donde el anticuerpo se administra periféricamente.

En un cuarto aspecto, la divulgación proporciona un método para prevenir y/o tratar el dolor crónico y/o los síntomas del dolor crónico en un individuo, que comprende la administración periférica al individuo de una cantidad eficaz de un anticuerpo antagonista anti-CGRP.

En un quinto aspecto, la divulgación proporciona un método para mejorar, controlar, reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión del dolor crónico y/o síntomas de dolor crónico en un individuo, que comprende la administración periférica al individuo de una cantidad eficaz de un anticuerpo antagonista anti-CGRP.

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, el individuo es preferiblemente un mamífero, por ejemplo un animal de compañía tal como un caballo, gato o perro o un animal de granja como una oveja, vaca o cerdo. Lo más preferible, el mamífero es un humano. De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, el medicamento y/o anticuerpo antagonista anti-CGRP se prepara para administración oral, sublingual, bucal, tópica, rectal, inhalada, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intracardíaca, intraósea, intradérmica, intraperitoneal, transmucosal, vaginal, intravítrea, intraarticular, periarticular, local o epicutánea.

De acuerdo con una realización preferida adicional el medicamento se prepara para administración periférica antes y/o durante y/o después del desarrollo de dolor crónico.

En una realización, el anticuerpo antagonista anti-CGRP actúa periféricamente en la administración. En una realización, el anticuerpo antagonista anti-CGRP no se administra central, espinal o intratecalmente.

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, el dolor por cáncer crónico comprende uno o más de dolor nociceptivo crónico, dolor neuropático crónico, dolor inflamatorio crónico, fibromialgia, dolor irruptivo y dolor persistente. El dolor por cáncer crónico puede comprender uno o más de hiperalgesia, alodinia, sensibilización central, sensibilización periférica, desinhibición y facilitación aumentada.

De acuerdo con la presente invención, el dolor por cáncer crónico es dolor por cáncer que se origina de malignidad o de cáncer, preferiblemente seleccionado de uno o más de: adenocarcinoma en tejido glandular, blastoma en tejido embrionario de órganos, carcinoma en tejido epitelial, leucemia en tejidos que forman células sanguíneas, linfoma en tejido linfático, mieloma en médula ósea, sarcoma en tejido conectivo o de soporte, cáncer suprarrenal, linfoma relacionado con SIDA, cáncer de vejiga, cáncer de hueso, cáncer de cerebro, cáncer de mama, tumores carcinoides, cáncer de cuello uterino, quimioterapia, cáncer de colon, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de cabeza, cáncer de cuello, cáncer hepatobiliar, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, linfoma, enfermedad de Hodgkin, linfoma, tumores no Hodgkin, tumores del sistema nervioso, cáncer oral, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de recto, cáncer de piel, cáncer de estómago, cáncer de testículo, cáncer de tiroides, cáncer de uretra, cáncer de hueso, sarcomas cáncer de

tejido conectivo, cáncer de tejido óseo, cáncer de células productoras de sangre, cáncer de médula ósea, mieloma múltiple, leucemia, cáncer de hueso primario o secundario, tumores que metastatizan al hueso, tumores que se infiltran en el nervio y vísceras huecas. Más preferiblemente, el dolor por cáncer comprende dolor visceral, preferiblemente dolor visceral que surge de cáncer de páncreas y/o metástasis en el abdomen. Además, preferiblemente, el dolor por cáncer comprende dolor visceral, preferiblemente dolor visceral que surge de cáncer de páncreas y/o metástasis en el abdomen. Más preferiblemente, el dolor por cáncer comprende dolor somático, preferiblemente dolor somático debido a uno o más de cáncer de hueso, metástasis en el hueso, dolor posquirúrgico, sarcomas, cáncer del tejido conectivo, cáncer de tejido óseo, cáncer de células productoras de sangre de la médula ósea, mieloma múltiple, leucemia, cáncer de hueso primario o secundario.

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, el anticuerpo antagonista anti-CGRP se une a CGRP, más preferiblemente se une a CGRP e inhibe la capacidad de CGRP de unirse al receptor de CGRP. Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP se une tanto a CGRP humano como de roedor, preferiblemente CGRP humano y de rata. Más preferiblemente, el anticuerpo se une a CGRP humano, más preferiblemente el anticuerpo antagonista anti-CGRP se une a α-CGRP humano o a α-CGRP y/o β-CGRP humano. Más preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP es un anticuerpo que muestra una cualquiera o más de las siguientes características funcionales: (a) se une a CGRP; (b) bloquea que CGRP se una a su receptor(es); (c) bloquea o disminuye la activación del receptor de CGRP, incluyendo la activación de cAMP; (d) inhibe, bloquea, suprime o reduce la actividad biológica de CGRP, incluyendo vías secuencia abajo mediadas por la señalización de CGRP, como la unión al receptor y/o la provocación de una respuesta celular a CGRP; (e) previene, mejora o trata cualquier aspecto del dolor crónico; (f) aumenta la eliminación de CGRP; y (g) inhibe (reduce) la síntesis, producción o liberación de CGRP.

Se sabe que los anticuerpos de la invención, incluyendo G1 y G2, se unen a CGRP y eliminan su disponibilidad biológica, por ejemplo, en el suero evitando por tanto que CGRP acceda a su receptor y las respuestas celulares secuencia abajo y los efectos biológicos de CGRP como brotes y vasodilatación.

En una realización preferida adicional de la invención el anticuerpo antagonista anti-CGRP se une a un fragmento de CGRP, más preferiblemente a un fragmento de CGRP así como al CGRP de longitud completa. Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP se une a la región C-terminal o fragmento de CRGP. La región C-terminal o fragmento de CRGP comprende preferiblemente los aminoácidos 19-37 o 25-37 o 29-37 o alternativamente 30-37, además alternativamente 31-37 de CGRP. En una realización adicional, la región C-terminal o fragmento de CRGP comprende preferiblemente los aminoácidos 32-37 lo más preferible de 33 a 37 de CGRP. Preferiblemente, el CGRP es o α-CGRP o β-CGRP, más preferiblemente humano o de roedor, más preferiblemente humano o de rata, más preferiblemente humano, más preferiblemente α-CGRP o β-CGRP humano, lo más preferible α-CGRP humano.

En una realización preferida adicional de la invención el anticuerpo antagonista anti-CGRP se une específicamente a la secuencia de aminoácidos GSKAF. Preferiblemente, la secuencia GSKAF de CGRP es el epítopo al que se une el anticuerpo antagonista anti-CGRP, preferiblemente en la posición 33 a 37, lo más preferible la secuencia es GXXXF donde X puede ser cualquier aminoácido, preferiblemente en las posiciones 33 a 37 de CGRP, los extremos definidos por los aminoácidos G33 y F37 de CGRP.

En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo antagonista anti-CGRP que se une específicamente a un epítopo definido por los aminoácidos G33 a F37 de CGRP. El anticuerpo antagonista anti-CGRP puede unirse específicamente al epítopo definido por la secuencia de aminoácidos GSKAF. En una realización, la presente invención proporciona el uso de dicho anticuerpo en los usos y métodos definidos en los varios aspectos de la presente invención.

En una realización, el anticuerpo antagonista anti-CGRP inhibe o evita la activación del receptor de CGRP. Preferiblemente, el anticuerpo anti-CGRP tiene una IC50 de entre 0,0001 (0,1 nM) a 500 μM. En algunas realizaciones preferidas, la CI50 está entre 0,0001 μM y, o es de aproximadamente, cualquiera de 250 μM, 100 μM, 50 μM, 10 μM, 1 μM, 500 nM, 250 nM, 100 nM, 50 nM, 20 nM, 15 nM, 10 nM, 5 nM, 1 nM o 0,5 nM como se mide en un ensayo de unión in vitro. En algunas realizaciones preferidas adicionales, la IC50 es menor que cualquiera de 500 pM, o 100 pM, o 50 pM, como se mide en un ensayo de unión in vitro. En una realización preferida más adicional, la IC50 es 1,2 nM o 31 nM.

En una realización preferida adicional, el anticuerpo antagonista anti-CGRP usado es capaz de competir con un anticuerpo descrito anteriormente en la presente para la unión de CGRP o a un fragmento de CGRP, o a un fragmento de CGRP así como a CGRP de longitud completa, preferiblemente a la región C-terminal o fragmento de CRGP, preferiblemente la región C-terminal o fragmento de CRGP comprende los aminoácidos 19-37 o 25-37 o 29-37 o alternativamente 30-37, más alternativamente 31-37 de CGRP. En una realización adicional, la región C-terminal o fragmento de CRGP comprende preferiblemente los aminoácidos 32-37, lo más preferible 33 a 37 de CGRP.

En una realización preferida adicional, el anticuerpo antagonista anti-CGRP o porción de unión a antígeno del mismo como se usa en la invención es un anticuerpo capaz de competir con un anticuerpo antagonista anti-CGRP descrito en la presente con anterioridad, en particular G1 o G2 como se describe en la presente, para:

(a) la unión de CGRP o un fragmento de CGRP, o un fragmento de CGRP así como el CGRP de longitud completa, preferiblemente la región C-terminal o fragmento de CRGP, preferiblemente la región C-terminal o fragmento de CRGP que comprende los aminoácidos 19-37 o 25-37 o 29-37 o alternativamente 30-37, más alternativamente 31-37, preferiblemente los aminoácidos 32-37, lo más preferible 33 a 37 de CGRP, preferiblemente el CGRP es alfa o beta, preferiblemente beta, más preferiblemente de roedor o humano, lo más preferible humano,
(b) la unión de la secuencia de epítopo GSKAF, preferiblemente en la posición de aminoácidos 33 a 37 de CGRP como se define en (a), más preferiblemente a la secuencia GXXXF, donde X es cualquier aminoácido, preferiblemente GXXXF en la posición de aminoácidos 33 a 37 de CGRP como se define en (a),
(c) la unión como se describe en (a) o (b) con sustancialmente el mismo Kd y/o sustancialmente el mismo K_{off} , y/o
(d) la unión a CGRP e inhibición/antagonización de la actividad biológica de CGRP y/o la vía(s) corriente abajo, preferiblemente el CGRP es alfa o beta, preferiblemente beta, más preferiblemente de roedor o humano, lo más preferible humano.

El anticuerpo antagonista anti-CGRP se une preferentemente a CGRP, región de CGRP o un fragmento de CGRP con una afinidad de unión (K_d) de entre 0,000001 µM (0,001 nM) o 0,00001 µM (0,01 nM) a 500 µM. En algunas realizaciones preferidas, la afinidad de unión (Kd) es de entre 0,000001 µM o 0,00001 µM y, o es de aproximadamente, cualquiera de 250 µM, 100 µM, 50 µM, 10 µM, 1 µM, 500 nM, 250 nM, 100 nM , 50 nM, 20 nM, 15 nM, 10 nM, 5 nM, 1 nM, 0,5 nM, 1 nM, 0,05 nM, o 0,01 nM, 0,005 nM, 0,001 nM, como se mide en un ensayo de unión in vitro. En algunas realizaciones preferidas adicionales, la afinidad de unión (Kd) es menor que cualquiera de 500 pM, o 100 pM, 50 pM, o 10 pM, 5 pM, 1 pM, como se mide en un ensayo de unión in vitro. En una realización más preferida adicional, la afinidad de unión (Kd) es 0,04 nM o 16 nM.

El anticuerpo antagonista anti-CGRP como se usa en la presente invención puede seleccionarse del grupo de: anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')2, Fv, Fc, ScFv, etc.), anticuerpos quiméricos, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos heteroconjugados, anticuerpos de cadena sencilla (ScFv), mutantes de los mismos, proteínas de fusión que comprenden una porción de anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo de dominio), anticuerpos humanizados, y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprende un sitio de reconocimiento de antígeno de la especificidad requerida, incluyendo variantes de glicosilación de anticuerpos, variantes de secuencia de aminoácidos de anticuerpos, y anticuerpos modificados covalentemente. El anticuerpo antagonista anti-CGRP puede ser murino, de rata, humano o de cualquier otro origen (incluyendo anticuerpos quiméricos o humanizados). En algunas realizaciones, el anticuerpo antagonista anti-CGRP puede humanizarse, pero es más preferiblemente humano. Preferiblemente el anticuerpo antagonista anti-CGRP se aísla, más preferiblemente es sustancialmente puro. Cuando el anticuerpo antagonista anti-CGRP es un fragmento de anticuerpo, el fragmento retiene preferiblemente las características funcionales del anticuerpo original, es decir, la actividad de unión y/o antagonista de CGRP como se describe en las características funcionales anteriores.

Los ejemplos de anticuerpos antagonistas anti-CGRP son conocidos en la técnica. Por lo tanto, de acuerdo con una realización preferida de la presente invención, el anticuerpo antagonista anti-CGRP como se usa en la presente invención es preferiblemente un anticuerpo anti-CGRP como se divulga de manera general o específica en cualquiera de (i) la WO2007/054809, (ii) la WO2007/076336, (iii) TTan et al., Clin. Sci. (Lond). 89:565-73, 1995, (iv) Sigma (Missouri, US), número de producto C7113 (clon Nº 4901), (v) Plourde et al., Peptides 14:1225-1229, 1993 o que comprende o consiste de:

(a) un fragmento de dicho anticuerpo (por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')2, Fv, Fc, ScFv, etc.),
(b) una cadena ligera de dicho anticuerpo,
(c) una cadena pesada de dicho anticuerpo,
(d) una o más regiones variables de una cadena ligera y/o una cadena pesada de dicho anticuerpo,
(e) una o más CDR (una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR) de dicho anticuerpo,
(f) CDR H3 de la cadena pesada de dicho anticuerpo,
(g) CDR L3 de la cadena ligera de dicho anticuerpo,
(h) tres CDR de la cadena ligera de dicho anticuerpo,
(i) tres CDR de la cadena pesada de dicho anticuerpo,
(j) tres CDR de la cadena ligera y tres CDR de la cadena pesada, de dicho anticuerpo,
(k) uno cualquiera o más de (a) a (j).

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención el anticuerpo antagonista anti-CGRP es el anticuerpo G2 o el anticuerpo G1. De acuerdo con una realización más preferida de la presente el anticuerpo antagonista anti-CGRP usado es el anticuerpo anti-CGRP G1 como se divulga específicamente en la solicitud de

patente WO2007/054809, o que comprende sus variantes que mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809, incluyendo también anticuerpos funcionalmente equivalentes a G1, es decir que comprenden sustituciones conservadoras de residuos de aminoácidos o una o más deleciones o adiciones de aminoácidos que no afectan significativamente a sus características funcionales, por ejemplo, actividad de unión o antagonista de CRGP y variantes que tienen actividad y/o unión aumentada o disminuida. Como se usa en la presente, los términos "G1" y "anticuerpo G1" se usan indistintamente para referirse a un anticuerpo producido por vectores de expresión que tienen los números de depósito de ATCC PTA-6867 y ATCC PTA-6866 como se divulga en la solicitud WO2007/054809.

La Tabla 6 de la WO2007/054809 se expone a continuación como la Tabla 3.

La Tabla 3 siguiente muestra G1 y las variantes del anticuerpo G1 con sus afinidades para tanto α-CGRP de rata como para α-CGRP humano. Todas las sustituciones de aminoácidos de las variantes mostradas en la Tabla 3 se describen en relación a la secuencia de G1. Las afinidades de unión de los fragmentos Fab se determinaron mediante Biacore haciéndolos fluir a través de CGRP en un chip SA.

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos y datos de afinidad de unión para el anticuerpo G1 y variantes de G1 determinadas a 37º C por Biacore

Clon	L1	L2	H2	HC-FW3	α-rata k_{off} (1/s)	α-rata K_D(nM)	α-humano k_{off} (1/s)	α-humano K_D (nM)
G1					$3.99x10^{-4}$	2.57	$3.63 x10^{-5}$	0.063
M1				A100L	$1.10x10^{-3}$		$1.73x10^{-4}$	
M2				L99A A100R	$2.6x10^{-3}$	58	$3.1x10^{-4}$	3
M3				L99A A100S	$2.0x10^{-3}$	61	$2.1x10^{-4}$	1.7
M4				L99A A100V	$1.52x10^{-3}$	84.4	$6.95x10^{-5}$	0.43
M5				L99A A100Y	$7.35x10^{-4}$	40.8	$3.22x10^{-5}$	0.20
M6				L99N	$7.84x10^{-4}$	43.6	$1.33x10^{-4}$	0.83
M7				L99N A100C	$9.18x10^{-4}$	51.0	$2.43x10^{-4}$	1.52
M8				L99N A100G	$7.45x10^{-4}$	41.4	$9.20x10^{-5}$	0.58
M9				L99N A100Y	n.d.	n.d.	$1.00x10^{-5}$	0.06
M10				L99S A100S	$1.51x10^{-3}$	83.9	$1.73x10^{-4}$	1.08
M11				L99S A100T	$4.83x10^{-3}$	268.3	$2.83x10^{-4}$	1.77
M12				L99S A100V	$1.94x10^{-3}$	107.8	$1.01x10^{-4}$	0.63
M13				L99T A100G	$1.84x10^{-3}$	102.2	$1.86x10^{-4}$	1.16
M14				L99T A100K	n.d.	n.d.	$1.00x10^{-5}$	0.06
M15				L99T A100P	1.15x10 -3	63.9	1.58x10 -5	0.10

(continuación)

Clon	L1	L2	H2	HC-FW3	α-rata k_{off} (1/s)	α-rata K_D(nM)	α-humano k_{off} (1/s)	α-humano K_D (nM)
M16				L99T A100S	$9.96x10^{-4}$	55.3	$1.65x10^{-4}$	1.03
M17				L99T A100V	$2.06x10^{-3}$	114.4	$1.85x10^{-4}$	1.16
M18				L99V A100G	$1.22x10^{-3}$	67.8	$7.03x10^{-5}$	0.44
M19				L99V A100R	n.d.	n.d.	$1.00x10^{-5}$	0.06
M20	R28W			L99R A100L	$1.44x10^{-3}$	80.0	$1.36x10^{-4}$	0.85
M21	R28W			L99S	$6.95x10^{-4}$	15.2	$1.42x10^{-4}$	1.23
M22	R28W			L99T	$1.10x10^{-3}$	61.1	$1.16x10^{-4}$	0.73
M23	R28G			L99T A100V	$7.99x10^{-4}$	44.4	$1.30x10^{-4}$	0.81
M24	R28L			L99T A100V	$1.04x10^{-3}$	57.8	$1.48x10^{-4}$	0.93
M25	R28N			L99T A100V	$1.4x10^{-3}$	76	$1.4x10^{-4}$	1.3
M26	R28N		A57G	L99T A100V	$9.24x10^{-4}$	51.3	$1.48x10^{-4}$	0.93
M27	R28N T30A			L99T A100V	$3.41x10^{-3}$	189.4	$3.57x10^{-4}$	2.23
M28	R28N T30D		E54R A57N	L99T A100V	$1.25x10^{-3}$	69.4	$9.96x10^{-5}$	0.62
M29	R28N T30G			L99T A100V	$3.59x10^{-3}$	199.4	$3.80x10^{-4}$	2.38
M30	R28N T30G		E54K A57E	L99T A100V	$6.38x10^{-3}$	354.4	$5.90x10^{-4}$	3.69
M31	R28N T30G		E54K A57G	L99T A100V	$3.61x10^{-3}$	200.6	$3.47x10^{-4}$	2.17
M32	R28N T30G		E54K A57H	L99T A100V	$2.96x10^{-3}$	164.4	$2.71x10^{-4}$	1.69
M33	R28N T30G		E54K A57N S58G	L99T A100V	$9.22x10^{-3}$	512.2	$7.50x10^{-4}$	4.69
M34	R28N T30G		E54K A57N S58T	L99T A100V	$2.17x10^{-3}$	120.6	$6.46x10^{-4}$	4.04

(continuación)

Clon	L1	L2	H2	HC-FW3	α-rata k_{off} (1/s)	α-rata K_D(nM)	α-humano k_{off} (1/s)	α-humano K_D (nM)
M35	R28N T30G		E54K A57S	L99T A100V	$3.99x10^{-3}$	221.7	$3.39x10^{-4}$	2.12
M36	R28N T30R			L99T A100V	$4.79x10^{-3}$	266.1	$2.39x10^{-4}$	1.49
M37	R28N T30S		A57G	L99T A100V	$1.45x10^{-3}$	80.6	$2.26x10^{-4}$	1.41
M38	R28N T30W			L99T A100V	$5.11x10^{-3}$	283.9	$2.18x10^{-4}$	1.36
M39	R28N	G50A L56T	A57N S58Y	L99T A100V	$9.95x10^{-3}$	552.8	$4.25x10^{-4}$	2.66
M40	R28N	G50A L56T	E54K A57L	L99T A100V	0.36	20000.0	$1.28x10^{-3}$	8.00
M41	R28N	G50A L56T	E54K A57N E64D	L99T A100V	$4.53x10^{-3}$	251.7	$2.10x10^{-4}$	1.31
M42	R28N	G50A L56T	E54K A57N H61F	L99T A100V	$7.52x10^{-3}$	417.8	$4.17x10^{-4}$	2.61
M43	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58C	L99T A100V	$4.53x10^{-3}$	251.7	$2.63x10^{-4}$	1.64
M44	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58E	L99T A100V	$6.13x10^{-3}$	443	$2.10x10^{-4}$	2.05
M45	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58E E64D	L99T A100V	$5.58x10^{-3}$	259	$2.11x10^{-4}$	1.85
M46	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58E H61F	L99T A100V	$2.94x10^{-3}$	163.3	$5.39x10^{-4}$	3.37
M47	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58G	L99T A100V	$8.23x10^{-3}$	457.2	$3.32x10^{-4}$	2.08
M48	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58L	L99T A100V	0.0343	1905.6	$8.42x10^{-4}$	5.26

(continuación)

Clon	L1	L2	H2	HC-FW3	α-rata k_{off} (1/s)	α-rata K_D(nM)	α-humano k_{off} (1/s)	α-humano K_D (nM)
M49	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58Y H61F	L99T A100V	0.0148	822.2	$5.95x10^{-4}$	3.72
M50	R28N	G50A L56T	E54K A57R	L99T A100V	$5.30x10^{-3}$	294.4	$4.06x10^{-4}$	2.54
M51	R28N	L56I	E54K A57G	L99T A100V	$1.18x10^{-3}$	65.6	$1.31x10^{-4}$	0.82
M52	R28N	L56I	E54K A57N S58A	L99T A100V	$2.29x10^{-3}$	127.2	$2.81x10^{-4}$	1.76
M53	R28N	L56I	E54K A57N S58G	L99T A100V	$1.91x10^{-3}$	106.1	$3.74x10^{-4}$	2.34
M54	R28N T30A	G50A	E54K A57N S58P	L99T A100V	$2.16x10^{-3}$	120.0	$1.79x10^{-3}$	11.19
M55	R28N T30A	L56S	E54K A57N S58E E64D	L99T A100V	$5.85x10^{-3}$	325.0	$4.78x10^{-4}$	2.99
M56	R28N T30D	L56S	E54K A57N H61F	L99T A100V	$9.35x10^{-3}$	519.4	$4.79x10^{-4}$	2.99
M57	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58E	L99T A100V	0.0104	1,200	$3.22x10^{-4}$	3.08
M58	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58I H61F	L99T A100V	Sin unión	n.d.	$1.95x10^{-3}$	12.19
M59	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58N H61F	L99T A100V	0.0123	683.3	$5.24x10^{-4}$	3.28
M60	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58R H61F	L99T A100V	0.0272	1511.1	$9.11x10^{-4}$	5.69

(continuación)

Clon	L1	L2	H2	HC-FW3	α-rata k_{off} (1/s)	α-rata K_D(nM)	α-humano k_{off} (1/s)	α-humano K_D (nM)
M61	R28N T30G	A51H	E54Q A57N H61F	L99T A100V	5.21x10 $^{-3}$	289.4	4.59x10 $^{-4}$	2.87
M62	R28N T30G	A51H L56T	E54K A57N S58E	L99T A100V	5.75x10 $^{-3}$	242	5.57x10 $^{-4}$	5.86
M63	R28N T30G	G50A	E54K A57N S58T	L99T A100V	2.65x10 $^{-3}$	147.2	1.50x10 $^{-3}$	9.38
M64	R28N T30G	G50A	E54K A57N S58V	L99T A100V	0.0234	1300.0	1.32x10 $^{-3}$	8.25
M65	R28N T30G	G50A L56I	E54K A57C	L99T A100V	4.07x10 $^{-3}$	226.1	8.03x10 $^{-4}$	5.02
M66	R28N T30G	L56I	E54K A57E	L99T A100V	5.11x10 $^{-3}$	283.9	5.20x10 $^{-4}$	3.25
M67	R28N T30G	L56I	E54K A57F	L99T A100V	1.71x10 $^{-3}$	95.0	8.20x10 $^{-4}$	5.13
M68	R28N T30G	L56I	E54K A57N S58D E64D	L99T A100V	6.76x10 $^{-3}$	375.6	4.28x10 $^{-4}$	2.68
M69	R28N T30G	L56I	E54K A57N S58E	L99T A100V	1.81x10 $^{-3}$	100.6	7.33x10 $^{-4}$	4.58
M70	R28N T30G	L56I	E54K A57S	L99T A100V	6.07x10 $^{-3}$	337.2	5.59x10 $^{-4}$	3.49
M71	R28N T30G	L56I	E54K A57Y	L99T A100V	2.12x10 $^{-3}$	117.8	1.28x10 $^{-3}$	8.00
M72	R28N T30G	L56S	E54K	L99T A100V	3.95x10 $^{-3}$	219.4	4.00x10 $^{-4}$	2.50
M73	R28N T30G	L56S	E54K A57N S58Y E64D	L99T A100V	3.00x10 $^{-3}$	166.7	2.55x10 $^{-4}$	1.59
M74	R28N T30G	L56S	E54K A57S	L99T A100V	6.03x10 $^{-3}$	335.0	5.97x10 $^{-4}$	3.73
M75	R28N T30G	L56S	E54K A57V	L99T A100V	1.87x10 -2	1038.9	1.16x10 -3	7.25

(continuación)

Clon	L1	L2	H2	HC-FW3	α-rata k_{off} (1/s)	α-rata K_D(nM)	α-humano k_{off} (1/s)	α-humano K_D (nM)
M76	R28N T30S	G50A L56T	A57G	L99T A100V	1.16x10 $^{-3}$	64.4	3.64x10 $^{-4}$	2.28
M77	R28N T30S	G50A L56T	E54K A57D	L99T A100V	0.0143	794.4	4.77x10 $^{-4}$	2.98
M78	R28N T30S	G50A L56T	E54K A57N S58T	L99T A100V	0.167	9277.8	1.31x10 $^{-3}$	8.19
M79	R28N T30S	G50A L56T	E54K A57P	L99T A100V	0.19	10555.6	1.29x10 $^{-3}$	8.06
M80	R28N T30S	L56I	E54K A57N S58V	L99T A100V	0.0993	5516.7	2.09x10 $^{-3}$	13.06
M81	R28N T30S	L56S	E54K A57N S58E	L99T A100V	4.29x10 $^{-3}$	238.3	4.90x10 $^{-4}$	3.06
M82	R28N T30V	A51H L56T	A57N	L99T A100V	6.99x10 $^{-3}$	388.3	8.77x10 $^{-4}$	5.48
M83	R28N T30V	A51H L56T	E54K A57N S58M H61F	L99T A100V	Sin unión	n.d.	9.33x10 $^{-4}$	5.83
M84	R28N T30V	A51H L56T	E54N A57N	L99T A100V	1.76x10 $^{-2}$	977.8	1.08x10 $^{-3}$	6.75

De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, el anticuerpo antagonista anti-CGRP comprende o consiste de un polipéptido seleccionado de: (a) anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; (b) un fragmento o una región del anticuerpo G1 o sus variantes que mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; (c) una cadena ligera del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; (d) una cadena pesada de anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; (e) una o más regiones variables de una cadena ligera y/o una cadena pesada del anticuerpo G1 o sus variantes que mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; (f) una o más CDR (una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR) del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; (g) CDR H3 de la cadena pesada del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; (h) CDR L3 de la cadena ligera del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; (i) tres CDR de la cadena ligera del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; (j) tres CDR de la cadena pesada del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; (k) tres CDR de la cadena ligera y/o tres CDR de la cadena pesada, del anticuerpo G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809; y (i) un anticuerpo que comprende cualquiera de (b) a (k). La invención también proporciona polipéptidos que comprenden uno cualquiera o más de los anteriores. En algunas realizaciones, la por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR son por lo menos aproximadamente un 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idénticas a por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR de G1 o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la WO2007/054809.

La determinación de las regiones CDR está dentro de la capacidad del experto en la técnica. Se entiende que en algunas realizaciones, las CDR pueden ser una combinación de CDR de Kabat y Chothia. En algunas realizaciones, las CDR son las CDR de Kabat. En otras realizaciones, las CDR son las CDR de Chothia.

El anticuerpo antagonista anti-CGRP preferiblemente comprende o consiste en un fragmento o una región del anticuerpo G1 (por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')2, Fv, Fc, ScFv etc.) o sus variantes mostradas en la Tabla 6 de la

WO2007/054809. Preferiblemente, dicho fragmento o región tiene las características funcionales de un anticuerpo antagonista anti CGRP, por ejemplo, actividad de unión y/o actividad antagonista de CGRP, y comprende o consiste en uno o más de una cadena ligera, cadena pesada, fragmento que contiene una o más regiones variables de una cadena ligera y/o una cadena pesada, o una o más CDR de una cadena ligera y/o una cadena pesada del anticuerpo G1.

De acuerdo con una realización preferida adicional de la invención, el anticuerpo antagonista anti-CGRP comprende una región variable de cadena ligera, LCVR, que comprende un péptido con una secuencia seleccionada del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 28-32 y/o una región variable de cadena pesada, HCVR, que comprende un péptido con una secuencia seleccionada del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 34-38 de la solicitud de patente WO2007/076336.

Más preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP comprende un polipéptido LCVR de una SEQ ID NO como se muestra en la Tabla 1 de la solicitud de patente WO2007/076336y además comprende un polipéptido de HCVR de una SED ID NO como se muestra en la Tabla 1 de la solicitud de patente WO2007/076336.

De acuerdo con una realización adicional de la invención el anticuerpo antagonista anti-CGRP usado comprende una CDR de cadena ligera (CDRL) seleccionada del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 8-13 y/o una CDR de cadena pesada (CDRH) seleccionada del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 14-22 de solicitud de patente WO2007/076336.

Los métodos para elaborar y aislar los anticuerpos antagonistas anti-CGRP de la solicitud WO2007/076336y los datos que demuestran la caracterización de unión y antagonista de CGRP de los mismos se describen en la solicitud WO2007/076336.

Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso en la presente invención comprende un dominio VH que es por lo menos un 85%, por lo menos un 86%, por lo menos un 87%, por lo menos un 88%, por lo menos un 89%, por lo menos un 90%, a por lo menos un 91%, por lo menos un 92%, por lo menos un 93%, por lo menos un 94%, por lo menos un 95%, por lo menos un 96%, por lo menos un 97% por lo menos un 98%, por lo menos un 99% o 100% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 19 presentadas en la presente.

Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP comprende un dominio VL que es por lo menos un 85%, por lo menos un 86%, por lo menos un 87%, por lo menos un 88%, por lo menos un 89%, por lo menos un 90%, por lo menos un 91%, por lo menos un 92%, por lo menos un 93%, por lo menos un 94%, por lo menos un 95%, por lo menos un 96%, por lo menos un 97% por lo menos un 98%, por lo menos un 99% o 100% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 20 presentadas en la presente.

El anticuerpo antagonista anti-CGRP comprende preferiblemente un dominio VH y un dominio VL que son por lo menos un 85%, por lo menos un 86%, por lo menos un 87%, por lo menos un 88%, por lo menos un 89%, por lo menos un 90%, por lo menos un 91 %, por lo menos un 92%, por lo menos un 93%, por lo menos un 94%, por lo menos un 95%, por lo menos un 96%, por lo menos un 97% por lo menos un 98%, por lo menos un 99% o 100% idénticos en la secuencia de aminoácidos a las SEQ ID NO: 1 y 2 respectivamente o las SEQ ID NO: 19 y 20 presentadas en la presente, respectivamente.

Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti CGRP comprende un dominio VH que es por lo menos un 90% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 1 y un dominio VL que es por lo menos un 90% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 2 presentadas en la presente.

Alternativamente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP comprende preferiblemente un dominio VH que es por lo menos un 90% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 19 y un dominio VL que es por lo menos un 90% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 20 presentadas en la presente.

El anticuerpo antagonista anti-CGRP comprende preferiblemente por lo menos una CDR seleccionada del grupo que consiste de: (a). CDR H1 como se expone en la SEQ ID NO: 3 o 21; (segundo). CDR H2 como se expone en la SEQ ID NO: 4 o 22; (c). CDR H3 como se expone en la SEQ ID NO: 5 o 23; (d). CDR L1 como se expone en la SEQ ID NO: 6 o 24; (e) CDR L2 como se expone en la SEQ ID NO: 7 o 25; (f). CDR L3 como se expone en la SEQ ID NO: 8 o 26; y g). variantes de CDR L1, CDR L2 y CDR H2 como se muestra en la Tabla 6 de la WO2007/054809.

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, la región constante de la cadena pesada del anticuerpo antagonista anti-CGRP puede ser de cualquier tipo de región constante, como IgG, IgM, IgD, IgA e IgE; y cualquier isotipo, como IgGI, IgG2, IgG3 e IgG4.

Más preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP comprende una cadena pesada producida por el vector de expresión con el Nº de Acceso ATCC PTA-6867. Más preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-

CGRP comprende una cadena ligera producida por el vector de expresión con el Nº de Acceso ATCC PTA-6866. Más preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP se produce mediante los vectores de expresión con los Nº de Acceso ATCC PTA-6867 y PTA-6866.

Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso en la presente invención es el anticuerpo G1 o el anticuerpo G2 definidos en la presente.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el anticuerpo antagonista anti-CGRP comprende una región constante modificada como se describe por ejemplo en la WO2007/054809. Preferiblemente la región constante modificada es inmunológicamente inerte, incluyendo parcialmente inmunológicamente inerte, de tal manera que no activa la lisis mediada por complemento, no estimula la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC), no activa la microglia. Preferiblemente, la región constante modificada se reduce en una o más de estas actividades. Más preferiblemente, la región constante se modifica como se describe en Eur. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624; Solicitud de PCT Nº PCT/GB99/01441; y/o Solicitud de Patente del Reino Unido Nº 9809951.8. De acuerdo con una realización preferida de la invención, el anticuerpo antagonista anti-CGRP comprende una región constante de IgG2 de cadena pesada humana que comprende las siguientes mutaciones: A330, P331 a S330, S331 (numeración de aminoácidos con referencia a la secuencia de IgG2 de tipo salvaje). EUR. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624 .

Los métodos para elaborar y asilar los anticuerpos antagonistas anti-CGRP de la solicitud WO2007/054809 y los datos que demuestran la caracterización de unión y antagonista de CGRP de los mismos se describen en la solicitud WO2007/054809. Las secuencias de la SEQ ID Nº 1 a 14 de dicha solicitud se proporcionan en la presente como SEQ ID Nº 1 a 14, respectivamente.

De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, el medicamento se prepara para administración periférica entre de una vez a 7 veces a la semana, más preferiblemente de una a cuatro veces por mes, más preferiblemente de una vez a seis veces por período de 6 meses, más preferiblemente de una vez a doce veces al año. Preferiblemente, el medicamento se prepara para administrarse periféricamente en un período seleccionado de: una vez al día, una vez cada dos, tres, cuatro, cinco o seis días, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez al mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, una vez cada cuatro meses, una vez cada cinco meses, una vez cada seis meses, una vez cada siete meses, una vez cada ocho meses, una vez cada nueve meses, una vez cada diez meses, una vez cada once meses o una vez al año. De acuerdo con las realizaciones preferidas, el medicamento se prepara para administrarse periféricamente a través de una vía seleccionada de uno o más de; oralmente, sublingualmente, bucalmente, tópicamente, rectalmente, por inhalación, transdérmicamente, subcutáneamente, intravenosamente, intraarterialmente o intramuscularmente, por administración intracardíaca, intraóseamente, intradérmicamente, intraperitonealmente, transmucosalmente, vaginalmente, intravítreamente, epicutáneamente, intraarticularmente, periarticularmente o localmente

De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, el medicamento se prepara para administración periférica con una concentración de anticuerpo de entre 0,1 y 200 mg/ml; preferiblemente a aproximadamente, o entre 0,1 y aproximadamente, cualquiera de 0,5, 1, 5, 10,15 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 o 200 mg/ml +/- 10% de error, lo más preferible a 50 mg/ml.

De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, el medicamento se prepara para administración periférica con una concentración de anticuerpo de entre 0,1 y 200 mg/kg de peso corporal; preferiblemente a aproximadamente, o entre 0,1 y aproximadamente, cualquiera de 0,5, 1, 5, 10,15 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 o 200 mg/kg de peso corporal +/- 10% de error, lo más preferible a 10 mg/kg.

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, el anticuerpo antagonista anti-CGRP tiene una vida media in vivo superior a cualquiera de 2, 4, 6, 8,10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152,154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208 o 210 días +/- 1 día, más preferiblemente más que cualquiera de 7, 8, 9, 10, 11 o 12 meses.

Preferiblemente, el anticuerpo antagonista anti-CGRP tiene una vida media in vivo de más de 6 días.

De acuerdo con una realización preferida adicional de la presente invención, el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti-CGRP no produce efectos del sistema nervioso central y/o deterioro cognitivo. Preferiblemente, el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti-CGRP no inducen ninguno o más de los siguientes: amnesia, confusión, despersonalización, hiperestesia, pensamiento anormal, trismo, vértigo, acatisia, apatía, ataxia, parestesia circumoral, estimulación del SNC, labilidad emocional, euforia, alucinaciones, hostilidad,

hiperestesia, hipercinesia, hipotonía, incoordinación, aumento de la libido, reacción maníaca, mioclonía, neuralgia, neuropatía, psicosis, convulsiones, habla anormal, estupor, ideación suicida; mareos, somnolencia, insomnio, ansiedad, temblor, depresión o parestesia. Lo más preferible el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti-CGRP no induce el deterioro de la coordinación motora o la atención.

De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti-CGRP no produce deterioro respiratorio, renal o gastrointestinal.

De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti-CGRP no produce efectos de dependencia física y/o psicológica. Preferiblemente el medicamento y/o el anticuerpo antagonista anti-CGRP no demuestra afinidad por los receptores de opiáceos, benzodiazepinas, fenciclidinas (PCP) o ácido N-metil-D-aspártico (NMDA) o estimulantes del SNC, ni produce ningún efecto sedante o eufórico.

En una realización, el anticuerpo antagonista anti-CGRP, con la administración, mejora, controla, reduce la incidencia de, o retrasa el desarrollo o la progresión de la sensación de dolor central.

En otra realización, el efecto del anticuerpo antagonista anti-CGRP es igual y/o superior a los efectos de los AINE y/u opiáceos en los mismos modelos de dolor crónico. En una realización, el anticuerpo antagonista anti-CGRP es eficaz en el tratamiento de poblaciones con dolor refractario.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona el uso o método de acuerdo con cualquier otro aspecto de la invención en el que el anticuerpo antagonista anti-CGRP se administra por separado, secuencialmente o simultáneamente en combinación con uno o más compuestos o agentes farmacológicamente activos adicionales, preferiblemente compuestos o agentes útiles para tratar el dolor crónico. Preferiblemente, el agente(s) adicional se selecciona de uno o más de:

(i) un analgésico opioide, por ejemplo, morfina, heroína, hidromorfona, oximorfona, levorfanol, levallorfán, metadona, meperidina, fentanilo, cocaína, codeína, dihidrocodeína, oxicodona, hidrocodona, propoxifeno, nalmefeno, nalorfina, naloxona, naltrexona, buprenorfina, butorfanol, nalbufina o pentazocina;
(ii) un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), por ejemplo, aspirina, diclofenaco, diflusinal, etodolac, fenbufeno, fenoprofeno, flufenisal, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, ketoprofeno, ketorolaco, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, nabumetona, naproxeno, oxaprozina, fenilbutazona, piroxicam, sulindac, tolmetina o zomepirac, inhibidores de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), celecoxib; rofecoxib; meloxicam; JTE-522; L-745,337; NS398; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(iii) un sedante barbitúrico, por ejemplo, amobarbital, aprobarbital, butabarbital, butabital, mefobarbital, metharbital, metohexital, pentobarbital, fenobartital, secobarbital, talbutal, teamilal o tiopental o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(iv) una benzodiazepina que tiene una acción sedante, por ejemplo clordiazepóxido, clorazepato, diazepam, flurazepam, lorazepam, oxazepam, temazepam o triazolam o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(v) un antagonista de H_1 que tiene una acción sedante, por ejemplo, difenhidramina, pirilamina, prometazina, clorfeniramina o clorciclizina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(vi) un sedante como glutetimida, meprobamato, metacualona o dicloralfenazona o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(vii) un relajante de músculo esquelético, por ejemplo, baclofeno, carisoprodol, clorzoxazona, ciclobenzaprina, metocarbamol u orfrenadina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(viii) un antagonista del receptor NMDA, por ejemplo, dextrometorfano ((+)-3-hidroxi-N-metilmorfinano) o su metabolito dextrorfano ((+)-3-hidroxi-N-metilmorfinano), ketamina, memantina, pirroloquinolina quinona o ácido cis-4-(fosfonometil)-2-piperidinacarboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(ix) un alfa-adrenérgico, por ejemplo, doxazosina, tamsulosina, clonidina o 4-amino-6,7-dimetoxi-2-(5-metanosulfonamido-1,2,3,4-tetrahidroisoquinol-2-il)-5-(2-piridil)quinazolina;
(x) un antidepresivo tricíclico, por ejemplo, desipramina, imipramina, amitropilina o nortriptilina;
(xi) un anticonvulsivo, por ejemplo, carbamazepina o valproato;
(xii) un antagonista de taquiquinina (NK), particularmente un antagonista de NK-3, NK-2 o NK-1, por ejemplo (αR,9R)-7-[3,5-bis(trifluorometil)bencil]-8,9,10,11-tetrahidro-9-metil-5-(4-metilfenil)-7H-[1,4]diazocino[2,1-g][1,7]naftidin-6-13-diona (TAK-637) , 5-[[(2R,3S)-2-[(1R)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etoxi-3-(4-fluorofenil)-4-morfolinil]metil]-1,2-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona (MK-869), lanepitant, dapitant o 3-[[2-metoxi-5-(trifluorometoxi)fenil]metilamino]-2-fenil-piperidina (2S, 3S);
(xiii) un antagonista muscarínico, por ejemplo, oxibutina, tolterodina, propiverina, cloruro de tropsio o darifenacina;
(xiv) un inhibidor de COX-2, por ejemplo, celecoxib, rofecoxib o valdecoxib;
(xv) un inhibidor de COX no selectivo (preferiblemente con protección GI), por ejemplo, nitroflurbiprofeno (HCT-1026);
(xvi) un analgésico de alquitrán de hulla, en particular paracetamol;

(xvii) un neuroléptico como droperidol;
(xviii) un agonista (por ejemplo, resinferatoxina) o antagonista (por ejemplo, capsazepina) del receptor vaniloide;
(xix) un beta-adrenérgico como propranolol;
(xx) un anestésico local, como mexiletina;
(xxi) un corticosteroide, como dexametasona;
(xxii) un agonista o antagonista del receptor de serotonina;
(xxiii) un analgésico colinérgico (nicotínico);
(xxiv) Tramadol;
(xxv) un inhibidor de PDEV, como sildenafil, vardenafil o taladafil;
(xxvi) un ligando alfa-2-delta como gabapentina o pregabalina;
(xxvii) un canabinoide; y
(xxviii) un antidepresivo, como amitriptilina (Elavil), trazodona (Desyrel), e imipramina (Tofranil) o anticonvulsivos como fenitoína (Dilantin) o carbamazepina (Tegretol).

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para la prevención y/o el tratamiento del dolor crónico por cáncer o para mejorar, controlar, reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión del dolor crónico por cáncer, que comprende un anticuerpo antagonista anti-CGRP y un portador y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. De acuerdo con una realización preferida, la composición se prepara para administrarse periféricamente.

Además, se describe un kit que comprende:

(a) una composición farmacéutica como se ha definido con anterioridad; y
(b) instrucciones para la administración periférica de una cantidad eficaz de dicha composición farmacéutica a un individuo para la prevención y/o tratamiento de dolor crónico y/o síntomas de dolor crónico o para mejorar, controlar, reducir la incidencia de, o retrasar el desarrollo o la progresión de dolor crónico y/o síntomas de dolor crónico.

El kit puede incluir uno o más recipientes que contienen un anticuerpo antagonista anti-CGRP o polipéptido descritos en la presente y las instrucciones de uso de acuerdo con cualquiera de los métodos y usos de la invención. El kit puede comprender además una descripción de la selección de un individuo adecuado para el tratamiento en base a la identificación de si ese individuo tiene dolor crónico o está en riesgo de tener dolor crónico. Las instrucciones para la administración periférica de la composición farmacéutica pueden incluir información sobre la dosificación, programa de dosificación y las vías de administración para el tratamiento pretendido.

Las características preferidas de cada aspecto de la invención se aplican igualmente a cada otro aspecto mutatis mutandis.

Ejemplos

La presente invención se describe ahora con referencia a los siguientes ejemplos que se pretende que ilustren, pero no que limiten, la invención.

Los siguientes ejemplos y figuras se hacen con referencia al anticuerpo G1, un anticuerpo monoclonal humano CGRP antihumano; y al anticuerpo G2, un anticuerpo monoclonal de ratón CGRP anti-rata (Wong HC et al. Hybridoma 12:93-106 (1993)).

Ejemplo 1: Configuración del modelo de dolor mecánico por cáncer en roedores

Las células tumorales usadas son células de carcinoma de glándula mamaria de rata MRMT-1 singénicas donadas por el Novartis Institute (Londres). Las células se cultivan en RPMI 1640 (Gibco) con 10% de suero bovino fetal (FCS), 1% de L-glutamina, 2% de penicilina/estreptomicina (Gibco). Se llevan a cabo dos lavados breves con 0,1% p/v de tripsina para liberar las células que se adhieren al matraz, y luego se inactivan con un volumen igual de 10% de FCS, seguido por centrifugación de la solución durante 3 minutos a 1200 rpm. El sedimento se lava y resuspende en medio de Hanks, y la concentración de células se calcula usando un Hemocitómetro, con tinción con azul de tripano para determinar el número de células MRMT-1 muertas. La concentración final de $3x10^3$ células se obtuvo luego diluyendo la solución de acuerdo con el número de células observadas. La solución final se mantuvo en hielo hasta el momento de la inyección.

Se usaron ratas macho Sprague-Dawley que pesaban cerca de 170 g en el momento de la cirugía para generar el modelo de cáncer. La anestesia se indujo en las ratas utilizando halotano o isoflurano (1,5-2%) 66% de N_2O y 33% de O_2, se afeitó la pata sobre el área apropiada y desinfectarse con clorhexidina (Animalcare Ltd, Reino Unido.). Se realizó una pequeña incisión para exponer la superficie anterior-medial del extremo distal de la tibia. Se perforó un agujero en el periostio usando un taladro dental de 0,7 mm, a través del cual se introdujo un tubo de

polietileno de 2 cm en la cavidad intramedular de la tibia. Usando una jeringuilla Hamilton, los 10µl de $3x10^3$ células MRMT-1 pre-preparados se inyectaron a través del tubo en la cavidad. A continuación, se extrajo el tubo y se tapó el orificio con material de restauración ósea (IRM, Dentsply USA). La herida se irrigó con solución salina al 0,9% y se cerró con un clip metálico. Los animales simulados se operaron usando el mismo procedimiento pero inyectados con 10 µl de solución de Hank solamente. Los animales se colocaron en una caja de recuperación termorregulada hasta el momento en que pudieron volver a colocarse en sus jaulas de alojamiento.

Ejemplo 2: Evaluación del anticuerpo anti-CGRP de roedor G2 en el modelo de dolor por cáncer

El comportamiento de prueba hacia estímulos mecánicos usa filamentos de von Frey (North Coast Medical Inc., USA) en la superficie plantar de tanto la pata trasera ipsilateral como contralateral. Las ratas se colocaron en un cubículo Perspex con un suelo de malla y se dejaron aclimatar durante 10 minutos. Cada von Frey se aplicó 10 veces a cada pata trasera alternando entre la ipsilateral y la contralateral, con una duración de 2-3 segundos cada vez. Los filamentos de Von Frey usados tienen fuerzas de flexión de 1, 5, 9 y 15 g, y se dejó un período de 5 minutos entre las fuerzas de von Frey ascendentes. Una respuesta nocifensiva (un levantamiento) se define como una retirada brusca de la pata trasera y se registra el número de levantamientos para cada pata en cada von Frey (máximo de 10) y se expresa como una respuesta porcentual.

Se llevó a cabo una evaluación de la eficacia del anticuerpo anti-CGRP de roedor G2 para atenuar la hipersensibilidad a una amplia variedad de estímulos estáticos mecánicos, de enfriamiento e integrados así como los comportamientos de dolor basal de fondo en este modelo validado de dolor óseo inducido por cáncer. Las respuestas medidas se atenúan por tratamientos analgésicos estándar como morfina y gabapentina. Todas las medidas se hicieron por el mismo científico de una manera ciega, cegado a la identidad del compuesto/control y al tratamiento del animal.

Se administró G2 IV a 10 mg/kg el día 9 y las ratas se analizaron a las 2 horas y luego en los días 10, 11, 12 y luego 14-18 días después del tratamiento (Figura 1).

El G2 tuvo un efecto marcado en las respuestas conductuales a los estímulos mecánicos de intensidad más alta. Las frecuencias de retirada a von Frey 8g se redujeron dos horas después de la inyección y se redujeron significativamente con respecto a lo observado en el grupo tratado con vehículo los días 11 y 12 (días 2 y 3 después de la inyección, p=0,0164 y 0,0311, respectivamente). De hecho, los animales tratados con G2 tenían ahora puntuaciones de dolor similares a los valores de referencia. El día 14 (día 5 después de la inyección de G2) no había diferencia discernible entre los grupos tratados con G2 y el vehículo. Ambos grupos alcanzaron un nivel similar de hipersensibilidad a von Frey 8g el día 18 después de la inyección de MRMT-1 (día 9 después del tratamiento).

También fue evidente una reversión similar en la hipersensibilidad a von Frey 15g. Una reducción en la hipersensibilidad a von Frey 15g del grupo tratado con vehículo fue evidente a las 2 horas después de la inyección, con significación observada a los 2 y 3 días después de la administración del fármaco (p=0,02 y 0,03, respectivamente). Las reducciones se perdieron 6 días después de la administración de G2 y ambos grupos alcanzaron ahora frecuencias de extracción máxima similares 18 días después de la inyección de MRMT-1 (Figura 2).

Los resultados indican que G2 reduce el dolor nocivo experimentado en el modelo de rata de cáncer de hueso metastásico.

Ejemplo 3: Prueba de varilla de rotación para deterioro motor

Otro punto final probado en el modelo de dolor por cáncer de hueso fue la deambulación (por varilla de rotación). La prueba es para obtener una medición de la deficiencia locomotora que compara el anticuerpo tratado con animales de control, cada uno sometido a la misma prueba en las mismas condiciones. La prueba de la varilla de rotación consta de 4 tambores giratorios divididos por bridas con un tambor accionado por motor acelerado (Ugo Basile, Comerio, VA, Italia). Para una prueba dada, se coloca una rata sobre la varilla de rotación y la velocidad de rotación se acelera de 4 a 16 rpm en 2 min. El tiempo de rendimiento máximo se establece generalmente a 120 segundos. Cada animal recibe generalmente tres pruebas por día, a intervalos de 1 hora, durante varios días consecutivos después de la cirugía. La latencia para caerse de la varilla se representa como la media de las tres pruebas. No se encontraron diferencias entre el grupo de anticuerpo G2 y el grupo de vehículo en la latencia para caer de la varilla de rotación durante la ambulación forzada (Figura 3). Esto sugiere que G2 no altera las vías implicadas en la coordinación motora, o la atención y señala a la falta de efectos secundarios del SNC producidos por el anticuerpo.

Ejemplo 4: Ensayo de unión

Se realizó un ensayo de unión para medir la IC_{50} del anticuerpo anti-CGRP G1 y G2 en el bloqueo de α-CGRP humano de la unión al receptor de CGRP1 en células SK-N-MC. Se trazaron curvas de respuesta a la dosis y

los valores de K_i se determinaron usando la ecuación: $K_i = IC_{50}/(1+([ligando]/K_D)$;Figura 4, donde la constante de disociación de equilibrio K_D = 8 pM para α-CGRP humano al receptor de CGRP1 como se presenta en células SK-N-MC. El valor de CI_{50} informado (en términos de moléculas de IgG) se convirtió en sitios de unión para que se pudiera comparar con las afinidades (K_D) determinadas por Biacore, usando α-CGRP humanos N-biotinilados y de rata en células de flujo individuales a niveles bajos (típicamente 100 unidades de respuesta) para proporcionar las superficies de reacción, mientras que una célula de flujo no modificada sirvió como un canal de referencia. G1 se tituló sobre las afinidades de unión de la superficie del chip se dedujeron del cociente de las constantes de velocidad cinética ($K_D=k_{off}/k_{on}$) ver la Tabla 1.

Tabla 1

	G2	Mab 7E9 de Ratón	G1
KD (nM), α-Hu	**17**	**1.0**	**0.04**
IC50 (nM) α-Hu	**37**	**2.6**	**1.2**
KD (nM) α-Rata	**1.0**	**58**	**1.2**

N-biotina-CGRP en chip	°C	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	$T_{1/2}$ (h)	K_D (nM)
α-humana	25	1.86×10^5	7.80×10^{-6}	24.68	0.042
α-humana	37	5.87×10^5	3.63×10^{-5}	5.30	0.063
β-humana	37	4.51×10^5	6.98×10^{-5}	2.76	0.155
α-rata	25	5.08×10^4	6.18×10^{-5}	3.12	1.22
α-rata	37	1.55×10^5	3.99×10^{-4}	0.48	2.57
β-rata	37	5.16×10^5	7.85×10^{-5}	2.45	0.152

Tabla 2

La afinidad de unión de G1 por CGRP α y β humana fue equivalente (Kd=0,155 y 0,152 nM respectivamente). La afinidad de unión de G2 por CGRP α y β de rata fue equivalente (16 y 17 nM, respectivamente). Además, la afinidad de unión a G1 es 40 veces más potente en humanos que en ratas para α-CGRP (Kd=0,042 y 1,22 nM, respectivamente) e igual de potente en humanos y ratas para β-CGRP (Kd=0,155 y 0,152 nM, respectivamente). . El anticuerpo G1 también demostró una buena selectividad cruzada de especies y se une a α-CGRP de rata con la misma afinidad que el anticuerpo G2 (alrededor de 1,2 nM). Tabla 2.

G1 se une a α- y β-CGRP humana y de mono cynomolgus con afinidad alta (K_D=63 y 155 pM, respectivamente). G1 muestra selectividad de especies para CGRP humano/cyno y se une a α- y β-CGRP de otras especies, por ejemplo, rata con afinidad más baja (K_D= 2,57nM y 152 pM, respectivamente).

Ejemplo 5: Vida media de anti-CGRP in vivo

Las mediciones en suero de anti-CGRP en ratas, Figura 5, indican que la vida media es del orden de 7 días. El anticuerpo está restringido periféricamente con un peso molecular de aproximadamente 150.000,Figuras 5a, 5b, es decir, no cruza el sistema nervioso central ni cruza la barrera hematoencefálica.

Ejemplo 6: Selectividad del anticuerpo anti-CGRP

Determinamos la especificidad del anticuerpo G1 para CGRP humano o de rata usando el chip Biacore para "sondear" la concentración libre de un complejo premezclado de mAb + péptido. Como se esperaba cuando preincubamos el anticuerpo G1 con CGRP humano o de rata, la respuesta se bloqueó completamente. Por el contrario, la preincubación de G1, con un exceso de amilina, calcitonina o adrenomedulina fue comparable a la respuesta de control (tampón más G1) lo que demuestra que G1 no formaba un complejo con estos péptidos (Figura 7).

Ejemplo 7: identificación del epítopo de unión al anticuerpo G1

El análisis de interacción se realizó a 25º C en un sistema Biacore 3000™ equipado con chips sensores recubiertos con estreptavidina (SA) (Biacore AB, Uppsala, Suecia) usando un tampón de ejecución Biacore estándar (HBS-P). Primero confirmamos que un fragmento de α-CGRP humano 25-37 N-biotinilado se unía con la misma afinidad al anticuerpo G1, que el α-CGRP humano N-biotinilado de longitud completa. Cada aminoácido entre las

posiciones 27-37 se mutó luego individualmente a alanina y expresó las veces de pérdida en afinidad en comparación con el fragmento de tipo salvaje. Los fragmentos N-biotinilados se capturaron sobre células de flujo individuales a niveles bajos (típicamente 100 unidades de respuesta) para proporcionar las superficies de reacción, mientras que una celda de flujo no modificada sirvió como un canal de referencia. Se generaron fragmentos Fab purificados de anticuerpo G1. Los fragmentos Fab se titularon sobre el chip usando 1 µM como la concentración superior de una serie de dilución de dos veces. Las fases de asociación y disociación se monitorizaron a 100 µl/min durante 1 minuto y 5 minutos respectivamente. Las superficies se regeneraron con una mezcla de 35% de etanol + NaOH 25 mM + NaCl 0,5M.

Los resultados del análisis de alanina muestran que el anticuerpo G1 se une a la región C-terminal de α-CGRP humano, particularmente los residuos 25 a 37, y muestra unión específica a una región (es decir, la pérdida de afinidad aumenta marcadamente cuando la región de unión específica se muta) que se puede definir como el epítopo y que se encuentra dentro de los últimos 5 aminoácidos C-terminales, es decir, de G33A a F37A. Los cambios más profundos en la afinidad son provocados a través de la mutación G33A y F37A (Figura 6). El Phe C-terminal es importante para la selectividad del anticuerpo G1 para CGRP frente a péptidos relacionados y miembros de la familia de genes (Figura 8).

Por tanto, en una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo antagonista anti-CGRP que se une específicamente a un epítopo definido por los aminoácidos G33 a F37 de CGRP. El anticuerpo antagonista anti-CGRP puede unirse específicamente al epítopo definido por la secuencia de aminoácidos GSKAF, más específicamente al epítopo de CGRP se define como GXXXF donde X puede ser cualquier aminoácido, siendo el G33 y el F37 los residuos más importantes del epítopo para definir la unión de alta afinidad del anticuerpo antagonista anti-CGRP.

Ejemplo 8: Análisis de indicadores de dependencia física o psicológica

Ni el anticuerpo G1 ni el anticuerpo G2 demuestran la penetración del SNC. Adicionalmente la observación a largo plazo de animales (ratas) dosificados con cualquier anticuerpo a niveles usados en los ejemplos anteriores no reveló eventos del SNC adversos como sedación o estimulación/comportamiento eufórico en comparación con los animales de control. Estas observaciones indican una ausencia de riesgo de dependencia para los anticuerpos y, por tanto, una seguridad significativamente mejorada de los anticuerpos frente a los opiáceos actuales usados en las terapias actuales para el dolor.

Ejemplo 9: Análisis de indicadores de efectos adversos gastrointestinales

Un estudio de rata in vivo de 1 mes con anticuerpo G2 y 1 semana de estudio comparativo con anticuerpo G1 demostró que no se observaron efectos gastrointestinales adversos sobre el comportamiento, la ingesta de alimentos, la producción de heces o la histopatología en comparación con los animales de control. Estas observaciones indican una ausencia de riesgo gastrointestinal para los anticuerpos y por tanto una seguridad significativamente mejorada de los anticuerpos sobre los AINE actuales usados en las terapias actuales contra el dolor.

Ejemplo 10; G1 y G2 como anticuerpos antagonistas anti-CGRP

Una consecuencia conocida de la actividad biológica de CGRP es la generación de brotes neurogénicos cuando se administra in vivo. Se ha demostrado que G1 y G2 son anticuerpos antagonistas anti-CGRP ya que previenen el desarrollo de brotes neurogénicos in vivo.

Usando un modelo de rata de brotes de piel neurogénica, se probó la eficacia de G1 para su capacidad de bloquear el efecto de CGRP *in vivo*. El nervio safeno en la rata se estimula eléctricamente provocando la liberación de CGRP desde las terminaciones nerviosas y llevando a la vasodilatación, los cambios resultantes en el flujo sanguíneo pueden medirse usando métodos de láser Dopler.

Los cambios en los parámetros del flujo sanguíneo se expresaron como el área bajo la curva (AUC, cambio en unidades de flujo Doppler arbitrarias multiplicadas por el tiempo). El antagonista del receptor de CGRP $CGRP_{8-37}$ (400 nmol/kg, i.v.) se usó como un control positivo para validar la especificidad del modelo (datos no mostrados). Para determinar el efecto de G1 antes de la dosificación para cada animal, la respuesta del flujo sanguíneo de referencia a la estimulación se estableció con dos estimulaciones del nervio safeno cada 30 minutos de diferencia. Las ratas se trataron con G1 después de que la respuesta del flujo sanguíneo de la segunda estimulación hubo vuelto a los niveles de referencia (aproximadamente 10 minutos después de la estimulación) y se realizaron cuatro estimulaciones adicionales a intervalos de 30 minutos.

Los resultados (Figura 9) demostraron que en animales tratados con vehículo no hubo cambios significativos en la respuesta al flujo sanguíneo pero las ratas tratadas con G1 mostraron una disminución significativa en la respuesta del flujo sanguíneo comenzando a los 90 y 120 minutos después de la dosis para 10

mg/kg y 1 mg/kg, respectivamente. Se logró una actividad similar usando D2. Adicionalmente en pruebas del modelo de brotes y vasodilatación neurogénica posteriores, G1 mostró un efecto marcado a los 7 días después de la dosificación IV (ED_{50} prevista = 6 ug/ml en el modelo de estimulación del nervio safeno). Las conclusiones de las pruebas realizadas son que G1 y G2 demuestran actividad antagonista anti CGRP.

También se muestra una capacidad de bloqueo de la función de CGRP similar para los anticuerpos en la publicación, Zeller J, et. al. Br J Pharmacol. Diciembre 2008;155(7):1093-103. Epub 8 de septiembre de 2008.

A continuación se proporcionan secuencias de anticuerpos útiles para poner en práctica la presente invención.

Secuencias de anticuerpos

Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 1)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWISWVRQAPGKGLEWVAEIRSESDA
SATHYAEAVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCLAYFDYGLAIQNYWGQG
TLVTVSS

Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 2)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASKRVTTYVSWYQQKPGQAPRLLIYGASNRYLGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCSQSYNYPYTFGQGTKLEIK

CDR H1 del anticuerpo G1 (CDR extendida) (SEQ ID NO: 3)

GFTFSNYWIS

CDR H2 del anticuerpo G1 (CDR extendida) (SEQ ID NO: 4)

EIRSESDASATHYAEAVKG

CDR H3 del anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 5)

YFDYGLAIQNY

CDR L1 del anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 6)

KASKRVTTYVS

CDR L2 del anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 7)

GASNRYL

CDR L3 del anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 8)

SQSYNYPYT

Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 9)

GAAGTTCAGCTGGTTGAATCCGGTGGTGGTCTGGTTCAGCCAGGTGGTTCCCTGC
GTCTGTCCTGCGCTGCTTCCGGTTTCACCTTCTCCAACTACTGGATCTCCTGGGTT
CGTCAGGCTCCTGGTAAAGGTCTGGAATGGGTTGCTGAAATCCGTTCCGAATCCG
ACGCGTCCGCTACCCATTACGCTGAAGCTGTTAAAGGTCGTTTCACCATCTCCCGT

GACAACGCTAAGAACTCCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGTGCTGAAGACA
CCGCTGTTTACTACTGCCTGGCTTACTTTGACTACGGTCTGGCTATCCAGAACTAC
TGGGGTCAGGGTACCCTGGTTACCGTTTCCTCC

Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 10)

GAAATCGTTCTGACCCAGTCCCCGGCTACCCTGTCCCTGTCCCCAGGTGAACGTGCT
ACCCTGTCCTGCAAAGCTTCCAAACGGGTTACCACCTACGTTTCCTGGTACCAGCAGA
AACCCGGTCAGGCTCCTCGTCTGCTGATCTACGGTGCTTCCAACCGTTACCTCGGTAT
CCCAGCTCGTTTCTCCGGTTCCGGTTCCGGTACCGACTTCACCCTGACCATCTCCTCC
CTGGAACCCGAAGACTTCGCTGTTTACTACTGCAGTCAGTCCTACAACTACCCCTACA
CCTTCGGTCAGGGTACCAAACTGGAAATCAAA

Secuencia de aminoácidos del anticuerpo completo de la cadena pesada del anticuerpo G1 (incluyendo IgG2 modificada como se describe en la presente) (SEQ ID NO: 11)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWISWVRQAPGKGLEWVAEIRSESDA
SATHYAEAVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCLAYFDYGLAIQNYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia de aminoácidos del anticuerpo completo de la cadena ligera del anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 12)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASKRVTTYVSWYQQKPGQAPRLLIYGASNRYLGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCSQSYNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Secuencia de nucleótidos de anticuerpo completo de la cadena pesada del anticuerpo G1 (incluyendo IgG2 modificada como se describe en la presente) (SEQ ID NO: 13)

GAAGTTCAGCTGGTTGAATCCGGTGGTGGTCTGGTTCAGCCAGGTGGTTCCCTGC
GTCTGTCCTGCGCTGCTTCCGGTTTCACCTTCTCCAACTACTGGATCTCCTGGGTT
CGTCAGGCTCCTGGTAAAGGTCTGGAATGGGTTGCTGAAATCCGTTCCGAATCCG
ACGCGTCCGCTACCCATTACGCTGAAGCTGTTAAAGGTCGTTTCACCATCTCCCGT

GACAACGCTAAGAACTCCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGTGCTGAAGACA
CCGCTGTTTACTACTGCCTGGCTTACTTTGACTACGGTCTGGCTATCCAGAACTAC
TGGGGTCAGGGTACCCTGGTTACCGTTTCCTCCGCCTCCACCAAGGGCCCATCTG
TCTTCCCACTGGCCCCATGCTCCCGCAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGG
GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAACCTGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGG
CGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGTCTC
TACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCATCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCT
ACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAAGCAACACCAAGGTCGACAAGACCGTGGA
GAGAAAGTGTTGTGTGGAGTGTCCACCTTGTCCAGCCCCTCCAGTGGCCGGACCA
TCCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAAGCCAAAGGACACCCTGATGATCTCCAGAACCCC
AGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGCAGTT
CAACTGGTATGTGGACGGAGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAAGAGA
GGAGCAGTTCAACTCCACCTTCAGAGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGGTGCACCAG
GACTGGCTGAACGGAAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGACTGCCAT
CCAGCATCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGACAGCCAAGAGAGCCACAGGT
GTATACCCTGCCCCCATCCAGAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC
TGTCTGGTGAAGGGATTCTATCCATCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACG
GACAGCCAGAGAACAACTATAAGACCACCCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGATC
CTTCTTCCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGAAAC
GTGTTCTCTTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTATACCCAGAAGAG
CCTGTCCCTGTCTCCAGGAAAGTAA

Secuencia de nucleótidos de anticuerpos completo de la cadena ligera del anticuerpo G1 (SEQ ID NO: 14)

GAAATCGTTCTGACCCAGTCCCCGGCTACCCTGTCCCTGTCCCCAGGTGAACGTG
CTACCCTGTCCTGCAAAGCTTCCAAACGGGTTACCACCTACGTTTCCTGGTACCAG
CAGAAACCCGGTCAGGCTCCTCGTCTGCTGATCTACGGTGCTTCCAACCGTTACC
TCGGTATCCCAGCTCGTTTCTCCGGTTCCGGTTCCGGTACCGACTTCACCCTGAC
CATCTCCTCCCTGGAACCCGAAGACTTCGCTGTTTACTACTGCAGTCAGTCCTACA
ACTACCCCTACACCTTCGGTCAGGGTACCAAACTGGAAATCAAACGCACTGTGGCT
GCACCATCTGTCTTCATCTTCCCTCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCCGGAACTGC
CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCGCGCGAGGCCAAAGTACAGTGGA
AGGTGGATAACGCCCTCCAATCCGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGA
CAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCAGAC
TACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGTTCTC
CAGTCACAAAGAGCTTCAACCGCGGTGAGTGCTAA

Comparación de la secuencia de aminoácidos de CGRP humano y de rata (α-CGRP humana (SEQ ID NO: 15); β-CGRP humana (SEQ ID NO: 16); α-CGRP de rata (SEQ ID NO: 17); y β-CGRP de rata (SEQ ID NO: 18)):

NH_2-ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSKAF-$CONH_2$ (SEQ ID NO:15)
NH_2-ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNFVPTNVGSKAF-$CONH_2$ (SEQ ID NO:16)
NH_2-SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNVGSEAF-$CONH_2$ (SEQ ID NO:17)
NH_2-SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNVGSKAF-$CONH_2$ (SEQ ID NO:18)

Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 19)

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSSVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYND
GTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAKGGNDGYWGQGTTLTV
SS

Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 20)

EIVLTQSPTTMAASPGEKITITCSASSSISSIYLHWYQQKPGFSPKVLIYRASNLASGVPA
RFSGSGSGTSYSLTIGTMEAEDVATYYCQQGSTIPFTFGSGTKLEIK

CDR H1 del anticuerpo G2 (CDR extendida) (SEQ ID NO: 21)

SSVMH

CDR H2 del anticuerpo G2 (CDR extendida) (SEQ ID NO: 22)

YINPYNDGTKYNEKFKG

CDR H3 del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 23)

GGNDGY

CDR L1 del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 24)

SASSSISSIYLH

CDR L2 del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 25)

RASNLAS

CDR L3 del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 26)

QQGSTIPFT

Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 27)

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAG
ATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGCTCTGTTATGCACTGGGTGAAGC
AGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACAATGATGGTAC
TAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGC
ACAGCCTACATGGAACTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTG
CAAAAGGGGGTAACGATGGCTACTGGGGCCAAGGCACTACTCTCACAGTCTCCTCA

Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 28)

GAAATTGTGCTCACCCAGTCTCCAACCACCATGGCTGCATCTCCCGGGGAGAAGATC
ACTATCACCTGTAGTGCCAGCTCAAGTATAAGTTCCATTTACTTGCATTGGTATCAGCA
GAAGCCAGGATTCTCCCCTAAAGTCTTGATTTATAGGGCATCCAATCTGGCTTCTGGA
GTCCCAGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATTGGCA
CCATGGAGGCTGAAGATGTTGCCACTTACTACTGCCAGCAGGGTAGTACTATACCATT
CACGTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA

Secuencia de aminoácidos de anticuerpo completo de la cadena pesada del anticuerpo G2 (no incluye el dominio Fc) (SEQ ID NO: 29)

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSSVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGT
KYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAKGGNDGYWGQGTTLTVSSAK
TTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY
TLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRD

Secuencia de aminoácidos de anticuerpo completo de la cadena ligera del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 30)

EIVLTQSPTTMAASPGEKITITCSASSSISSIYLHWYQQKPGFSPKVLIYRASNLASGVPARF
SGSGSGTSYSLTIGTMEAEDVATYYCQQGSTIPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQ
LTSGGASVVCFLNNFYPRDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKD
EYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

Secuencia de nucleótidos de anticuerpo completo de la cadena pesada del anticuerpo G2 (no incluye el dominio Fc) (SEQ ID NO: 31)

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAG
ATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGCTCTGTTATGCACTGGGTGAAGC
AGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACAATGATGGTAC
TAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGC
ACAGCCTACATGGAACTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTG
CAAAAGGGGGTAACGATGGCTACTGGGGCCAAGGCACTACTCTCACAGTCTCCTCAG
CCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCCTGGATCTGCTGCCCAAACTAA
CTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGT
GACCTGGAACTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCA
GTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCCTCCAGCACCTGGCCCAG
CGAGACCGTCACCTGCAACGTTGCCCACCCGGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGA
AAATTGTGCCCAGGGAT

Secuencia de nucleótidos de anticuerpo completo de la cadena ligera del anticuerpo G2 (SEQ ID NO: 32)

GAAATTGTGCTCACCCAGTCTCCAACCACCATGGCTGCATCTCCCGGGGAGAAGA
TCACTATCACCTGTAGTGCCAGCTCAAGTATAAGTTCCATTTACTTGCATTGGTATC
AGCAGAAGCCAGGATTCTCCCCTAAAGTCTTGATTTATAGGGCATCCAATCTGGCT
TCTGGAGTCCCAGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCA
CAATTGGCACCATGGAGGCTGAAGATGTTGCCACTTACTACTGCCAGCAGGGTAG
TACTATACCATTCACGTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAACGGGCTGATG
CTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGT
GCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACTTCTACCCCAGAGACATCAATGTCAAGTG
GAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGTGTCCTGAACAGTTGGACTGATCAG
GACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCTCACATTGACCAAGGACG
AGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCA
CCCATCGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTAA

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Pfizer limited
Poulson, Kristian T
Shelton, David L
zeller , Joerg
Machin, Ian
Corradini, Laura

<120> Métodos para Tratar Dolor Crónico

<130> PC33699A

<150> US 61/033,558
<151> 2008-03-04

<160> 32
<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1
<211> 122
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Glu Ser Asp Ala Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Leu Ala Tyr Phe Asp Tyr Gly Leu Ala Ile Gln Asn Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 2

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Lys Arg Val Thr Thr Tyr
20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Leu Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 3

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Ile Ser
1 5 10

<210> 4
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 4

Glu Ile Arg Ser Glu Ser Asp Ala Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu Ala
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 5

Tyr Phe Asp Tyr Gly Leu Ala Ile Gln Asn Tyr
1 5 10

<210> 6
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 6

Lys Ala Ser Lys Arg Val Thr Thr Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 7

Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Leu
1 5

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 8

Ser Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 9
<211> 366
<212> ADN
<213> Artificial

<400> 9

gaagttcagc tggttgaatc cggtggtggt ctggttcagc caggtggttc cctgcgtctg 60

tcctgcgctg cttccggttt caccttctcc aactactgga tctcctgggt tcgtcaggct 120

cctggtaaag gtctggaatg ggttgctgaa atccgttccg aatccgacgc gtccgctacc 180

cattacgctg aagctgttaa aggtcgtttc accatctccc gtgacaacgc taagaactcc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgcgtgct gaagacaccg ctgtttacta ctgcctggct 300

tactttgact acggtctggc tatccagaac tactggggtc agggtaccct ggttaccgtt 360

tcctcc 366

<210> 10
<211> 321
<212> ADN
<213> Artificial

<400> 10

gaaatcgttc tgacccagtc cccggctacc ctgtccctgt ccccaggtga acgtgctacc 60

ctgtcctgca aagcttccaa acgggttacc acctacgttt cctggtacca gcagaaaccc 120

ggtcaggctc ctcgtctgct gatctacggt gcttccaacc gttacctcgg tatcccagct 180

cgtttctccg gttccggttc cggtaccgac ttcaccctga ccatctcctc cctggaaccc 240

gaagacttcg ctgtttacta ctgcagtcag tcctacaact acccctacac cttcggtcag 300

ggtaccaaac tggaaatcaa a 321

<210> 11
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 11

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Glu Ile Arg Ser Glu Ser Asp Ala Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu
    50                  55                  60

Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Leu Ala Tyr Phe Asp Tyr Gly Leu Ala Ile Gln Asn Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
    210                 215                 220

Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
225                 230                 235                 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                245                 250                 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            260                 265                 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        275                 280                 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
```

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 12
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 12

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                  10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Lys Arg Val Thr Thr Tyr
            20                  25                  30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Leu Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 13
<211> 1347
<212> ADN
<213> Artificial

<400> 13

gaagttcagc tggttgaatc cggtggtggt ctggttcagc caggtggttc cctgcgtctg 60
tcctgcgctg cttccggttt caccttctcc aactactgga tctcctgggt tcgtcaggct 120
cctggtaaag gtctggaatg ggttgctgaa atccgttccg aatccgacgc gtccgctacc 180
cattacgctg aagctgttaa aggtcgtttc accatctccc gtgacaacgc taagaactcc 240
ctgtacctgc agatgaactc cctgcgtgct gaagacaccg ctgtttacta ctgcctggct 300
tactttgact acggtctggc tatccagaac tactggggtc agggtaccct ggttaccgtt 360
tcctccgcct ccaccaaggg cccatctgtc ttcccactgg ccccatgctc ccgcagcacc 420
tccgagagca cagccgccct gggctgcctg gtcaaggact acttcccaga acctgtgacc 480
gtgtcctgga actctggcgc tctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccagc tgtcctgcag 540
tcctcaggtc tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc catccagcaa cttcggcacc 600
cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag ccaagcaaca ccaaggtcga caagaccgtg 660
gagagaaagt gttgtgtgga gtgtccacct tgtccagccc ctccagtggc cggaccatcc 720
gtgttcctgt tccctccaaa gccaaaggac accctgatga tctccagaac cccagaggtg 780
acctgtgtgg tggtggacgt gtcccacgag gacccagagg tgcagttcaa ctggtatgtg 840
gacggagtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagccaagag aggagcagtt caactccacc 900
ttcagagtgg tgagcgtgct gaccgtggtg caccaggact ggctgaacgg aaaggagtat 960
aagtgtaagg tgtccaacaa gggactgcca tccagcatcg agaagaccat ctccaagacc 1020
aagggacagc caagagagcc acaggtgtat accctgcccc catccagaga ggagatgacc 1080
aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtg aagggattct atccatccga catcgccgtg 1140
gagtgggagt ccaacggaca gccagagaac aactataaga ccaccctcc aatgctggac 1200
tccgacggat ccttcttcct gtattccaag ctgaccgtgg acaagtccag atggcagcag 1260
ggaaacgtgt tctcttgttc cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta tacccagaag 1320
agcctgtccc tgtctccagg aaagtaa 1347

<210> 14
<211> 645
<212> ADN
<213> Artificial

<400> 14

gaaatcgttc tgacccagtc cccggctacc ctgtccctgt ccccaggtga acgtgctacc 60

ctgtcctgca aagcttccaa acgggttacc acctacgttt cctggtacca gcagaaaccc 120

ggtcaggctc ctcgtctgct gatctacggt gcttccaacc gttacctcgg tatcccagct 180

cgtttctccg gttccggttc cggtaccgac ttcaccctga ccatctcctc cctggaaccc 240

gaagacttcg ctgtttacta ctgcagtcag tcctacaact acccctacac cttcggtcag 300

ggtaccaaac tggaaatcaa acgcactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttccctcca 360

tctgatgagc agttgaaatc cggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

ccgcgcgagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatccgg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacc 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagttctc cagtcacaaa gagcttcaac cgcggtgagt gctaa 645

<210> 15
<211> 37
<212> PRT
<213> Humano

<400> 15

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe
35

<210> 16
<211> 37
<212> PRT
<213> Humano

<400> 16

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe
35

<210> 17
<211> 37
<212> PRT
<213> Rata

<400> 17

Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asp Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Glu Ala Phe
35

<210> 18
<211> 37
<212> PRT
<213> Rata

<400> 18

Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asp Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe
35

<210> 19
<211> 115
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 19

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser
20 25 30

Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Gly Asn Asp Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 20
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 20

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Thr Thr Met Ala Ala Ser Pro Gly
1               5                  10                  15

Glu Lys Ile Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ile
            20                  25                  30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Phe Ser Pro Lys Val Leu
        35                  40                  45

Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Gly Thr Met Glu
65                  70                  75                  80

Ala Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Thr Ile Pro
                85                  90                  95

Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 21

```
Ser Ser Val Met His
1               5
```

<210> 22
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 22

```
Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1               5                  10                  15

Gly
```

<210> 23
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 23

Gly Gly Asn Asp Gly Tyr
1 5

<210> 24
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 24

Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ile Tyr Leu His
1 5 10

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 25

Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 26

Gln Gln Gly Ser Thr Ile Pro Phe Thr
1 5

<210> 27
<211> 345
<212> ADN
<213> Artificial

<400> 27

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact agctctgtta tgcactgggt gaagcagaag 120

cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaagtac 180

aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atggaactca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aaaaggggggt 300

aacgatggct actggggcca aggcactact ctcacagtct cctca 345

<210> 28
<211> 324
<212> ADN
<213> Artificial

<400> 28

gaaattgtgc tcacccagtc tccaaccacc atggctgcat ctcccgggga gaagatcact 60

atcacctgta gtgccagctc aagtataagt tccatttact tgcattggta tcagcagaag 120

ccaggattct cccctaaagt cttgatttat agggcatcca atctggcttc tggagtccca 180

gctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacaattgg caccatggag 240

gctgaagatg ttgccactta ctactgccag cagggtagta ctataccatt cacgttcggc 300

tcggggacaa agttggaaat aaaa 324

<210> 29
<211> 216
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 29

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser
20 25 30

Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Gly Asn Asp Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser
145 150 155 160

Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu
165 170 175

Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser
180 185 190

Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val
195 200 205

Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp
210 215

<210> 30
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial

<400> 30

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Thr Thr Met Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Ile Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ile
20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Phe Ser Pro Lys Val Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Gly Thr Met Glu
65 70 75 80

Ala Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Thr Ile Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala
100 105 110

Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser
115 120 125

Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Asp
130 135 140

Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val
145 150 155 160

Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser
180 185 190

Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 31
<211> 648
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia Artificial

<400> 31

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact agctctgtta tgcactgggt gaagcagaag 120

cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaagtac 180

aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atggaactca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aaaaggggggt 300

aacgatggct actggggcca aggcactact ctcacagtct cctcagccaa aacgacaccc 360

ccatctgtct atccactggc ccctggatct gctgcccaaa ctaactccat ggtgaccctg 420

ggatgcctgg tcaagggcta tttccctgag ccagtgacag tgacctggaa ctctggatcc 480

ctgtccagcg gtgtgcacac cttcccagct gtcctgcagt ctgacctcta cactctgagc 540

agctcagtga ctgtcccctc cagcacctgg cccagcgaga ccgtcacctg caacgttgcc 600

cacccggcca gcagcaccaa ggtggacaag aaaattgtgc ccagggat 648

<210> 32
<211> 648
<212> ADN
<213> Artificial

<400> 32

gaaattgtgc tcacccagtc tccaaccacc atggctgcat ctcccgggga gaagatcact 60

atcacctgta gtgccagctc aagtataagt tccatttact tgcattggta tcagcagaag 120

ccaggattct cccctaaagt cttgatttat agggcatcca atctggcttc tggagtccca 180

gctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacaattgg caccatggag 240

gctgaagatg ttgccactta ctactgccag cagggtagta ctataccatt cacgttcggc 300

tcggggacaa agttggaaat aaaacgggct gatgctgcac caactgtatc catcttccca 360

ccatccagtg agcagttaac atctggaggt gcctcagtcg tgtgcttctt gaacaacttc 420

taccccagag acatcaatgt caagtggaag attgatggca gtgaacgaca aaatggtgtc 480

ctgaacagtt ggactgatca ggacagcaaa gacagcacct acagcatgag cagcaccctc 540

acattgacca aggacgagta tgaacgacat aacagctata cctgtgaggc cactcacaag 600

acatcaactt cacccatcgt caagagcttc aacaggaatg agtgttaa 648

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso como medicamento para la prevención y/o tratamiento de dolor por cáncer crónico, en donde el dolor por cáncer crónico se debe a una o más de las siguientes afecciones: adenocarcinoma en tejido glandular, blastoma en tejido embrionario de órganos , carcinoma en tejido epitelial, leucemia en tejidos que forman células sanguíneas, linfoma en tejido linfático, mieloma en médula ósea, sarcoma en tejido conectivo o de soporte, cáncer adrenal, linfoma relacionado con SIDA, cáncer de vejiga, cáncer de hueso, cáncer de mama, tumores carcinoides , cáncer de cuello uterino, cáncer de colon, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de cuello, cáncer hepatobiliar, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, linfoma (enfermedad de Hodgkin), linfoma (no de Hodgkin), cáncer oral, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer rectal, cáncer de piel, cáncer de estómago, cáncer testicular, cáncer de tiroides, cáncer de uretra, cáncer de tejido óseo, cáncer de células productoras de sangre, cáncer de médula ósea, mieloma múltiple, cáncer de hueso primario o secundario, tumores que metastatizan al hueso, y tumores que se infiltran en el nervio y la víscera hueca.

2. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el medicamento se prepara para administrarse periféricamente.

3. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el medicamento se administra periféricamente.

4. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el medicamento se prepara para ser administrado oralmente, sublingualmente, por inhalación, transdérmicamente, subcutáneamente, intravenosamente, intraarterialmente, intraarticularmente, periarticularmente, localmente y/o intramuscularmente.

5. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el medicamento se prepara para ser administrado subcutáneamente o intravenosamente.

6. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo antagonista anti-CGRP actúa periféricamente en la administración.

7. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dolor por cáncer crónico comprende uno o más de: dolor nociceptivo crónico, dolor neuropático crónico, dolor inflamatorio crónico, fibromialgia, dolor irruptivo y dolor persistente.

8. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el dolor por cáncer crónico comprende además uno o más de hiperalgesia, alodinia, sensibilización central, sensibilización periférica, desinhibición y facilitación aumentada.

9. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el dolor por cáncer crónico se debe a cáncer de hueso.

10. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo antagonista anti-CGRP:

(a) se une a CGRP;
(b) bloquea que CGRP se una a su receptor;
(c) bloquea o disminuye la activación del receptor de CGRP;
(d) inhibe, bloquea, suprime o reduce la actividad biológica de CGRP;
(e) aumenta la depuración de CGRP; y/o
(g) inhibe la síntesis, producción o liberación de CGRP.

11. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo antagonista anti-CGRP:

(i) es un anticuerpo humano,
(ii) es un anticuerpo humanizado,
(iii) es un anticuerpo monoclonal,
(iv) se une a CGRP con una Kd de 50 nM o menos (medida por resonancia de plasmones superficiales a 37º C); y/o
(v) tiene una vida media *in vivo* de por lo menos 7 días.

12. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo anti-CGRP se une específicamente a la región C-terminal de CGRP.

13. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el anticuerpo antagonista anti-CGRP reconoce específicamente el epítopo definido por la secuencia GSKAF.

14. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo anti-CGRP comprende un dominio VH que es por lo menos un 90% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 1.

15. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo anti-CGRP comprende un dominio VL que es por lo menos un 90% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 2.

16. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el anticuerpo anti-CGRP comprende además un dominio VH que es por lo menos un 90% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 1.

17. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el anticuerpo anti-CGRP comprende por lo menos una CDR seleccionada del grupo que consiste de:

(a) CDR H1 como se expone en la SEQ ID NO: 3;
(b) CDR H2 como se expone en la SEQ ID NO: 4;
(c) CDR H3 como se expone en la SEQ ID NO: 5;
(d) CDR L1 como se expone en la SEQ ID NO: 6;
(e) CDR L2 como se expone en la SEQ ID NO: 7;
(f) CDR L3 como se expone en la SEQ ID NO: 8;
(g) una variante de CDR L1 como se muestra en la Tabla 3;
(h) una variante de CDR L2 como se muestra en la Tabla 3; y
(i) una variante de CDR H2 como se muestra en la Tabla 3.

18. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el anticuerpo anti-CGRP comprende un dominio VH que es por lo menos en un 90% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 1 y un dominio VL que es por lo menos un 90% idéntico en la secuencia de aminoácidos a la SEQ ID NO: 2.

19. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el anticuerpo anti-CGRP comprende una cadena pesada producida por el vector de expresión con el Nº de acceso ATCC PTA-6867.

20. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el anticuerpo anti-CGRP comprende una cadena ligera producida por el vector de expresión con el Nº de acceso ATCC PTA-6866.

21. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el anticuerpo anti-CGRP se produce por los vectores de expresión con los Nº de Acceso ATCC PTA-6867 y PTA-6866.

22. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el medicamento se prepara para administración periférica mediante inyección subcutánea o intravenosa entre una, dos, tres o cuatro veces al mes.

23. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el medicamento se prepara para administración periférica con una concentración de anticuerpo de entre 5 y 100 mg/ml.

24. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el medicamento se prepara para administración periférica con una concentración de anticuerpo de entre 1 y 100 mg/kg de peso corporal.

25. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el medicamento no produce deficiencia del SNC de la coordinación motora o atención.

26. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo antagonista anti-CGRP no se administra central, espinal o intratecalmente.

27. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores,

en donde el anticuerpo antagonista anti-CGRP no es una molécula que penetra central, espinal o intratecalmente.

28. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo anti-CGRP se administra por separado, secuencialmente o simultáneamente en combinación con uno o más compuestos farmacológicamente activos adicionales.

29. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con la reivindicación 28, en donde el uno o más compuestos farmacológicamente activos adicionales se seleccionan de:

(i) un analgésico opioide, por ejemplo, morfina, heroína, hidromorfona, oximorfona, levorfanol, levallorfán, metadona, meperidina, fentanilo, cocaína, codeína, dihidrocodeína, oxicodona, hidrocodona, propoxifeno, nalmefeno, nalorfina, naloxona, naltrexona, buprenorfina, butorfanol, nalbufina o pentazocina;
(ii) un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), por ejemplo, aspirina, diclofenaco, diflusinal, etodolac, fenbufeno, fenoprofeno, flufenisal, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, ketoprofeno, ketorolaco, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, nabumetona, naproxeno, oxaprozina, fenilbutazona, piroxicam, sulindac, tolmetina o zomepirac, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(iii) un sedante barbitúrico, por ejemplo, amobarbital, aprobarbital, butabarbital, butabital, mefobarbital, metarbital, metohexital, pentobarbital, fenobartital, secobarbital, talbutal, teamilal o tiopental o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(iv) una benzodiazepina que tiene una acción sedante, por ejemplo clordiazepóxido, clorazepato, diazepam, flurazepam, lorazepam, oxazepam, temazepam o triazolam o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(v) un antagonista de H_1 que tiene una acción sedante, por ejemplo, difenhidramina, pirilamina, prometazina, clorfeniramina o clorciclizina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(vi) un sedante como glutetimida, meprobamato, metacualona o dicloralfenazona o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(vii) un relajante de músculo esquelético, por ejemplo, baclofeno, carisoprodol, clorzoxazona, ciclobenzaprina, metocarbamol u orfrenadina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(viii) un antagonista del receptor NMDA, por ejemplo, dextrometorfano ((+)-3-hidroxi-N-metilmorfinano) o su metabolito dextrorfano ((+)-3-hidroxi-N-metilmorfinano), ketamina, memantina, pirroloquinolina quinona o ácido cis-4-(fosfonometil)-2-piperidinacarboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
(ix) un alfa-adrenérgico, por ejemplo, doxazosina, tamsulosina, clonidina o 4-amino-6,7-dimetoxi-2-(5-metanosulfonamido-1,2,3,4-tetrahidroisoquinol-2-il)-5-(2-piridil)quinazolina;
(x) un antidepresivo tricíclico, por ejemplo, desipramina, imipramina, amitropilina o nortriptilina;
(xi) un anticonvulsivo, por ejemplo, carbamazepina o valproato;
(xii) un antagonista de taquiquinina (NK), particularmente un antagonista de NK-3, NK-2 o NK-1, por ejemplo (αR,9R)-7-[3,5-bis(trifluorometil)bencil]-8,9,10,11-tetrahidro-9-metil-5-(4-metilfenil)-7H-[1,4]diazocino[2,1-g][1,7]naftidin-6-13-diona (TAK-637) , 5-[[(2R,3S)-2-[(1R)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etoxi-3-(4-fluorofenil)-4-morfolinil]metil]-1,2-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona (MK-869), lanepitant, dapitant o 3-[[2-metoxi-5-(trifluorometoxi)fenil]metilamino]-2-fenil-piperidina (2S, 3S);
(xiii) un antagonista muscarínico, por ejemplo, oxibutina, tolterodina, propiverina, cloruro de tropsio o darifenacina;
(xiv) un inhibidor de COX-2, por ejemplo, celecoxib, rofecoxib o valdecoxib;
(xv) un inhibidor de COX no selectivo (preferiblemente con protección GI), por ejemplo, nitroflurbiprofeno (HCT-1026);
(xvi) un analgésico de alquitrán de hulla, en particular paracetamol;
(xvii) un neuroléptico como droperidol;
(xviii) un agonista (por ejemplo, resinferatoxina) o antagonista (por ejemplo, capsazepina) del receptor vaniloide;
(xix) un beta-adrenérgico como propranolol;
(xx) un anestésico local, como mexiletina;
(xxi) un corticosteroide, como dexametasona;
(xxii) un agonista o antagonista del receptor de serotonina;
(xxiii) un analgésico colinérgico (nicotínico);
(xxiv) Tramadol;
(xxv) un inhibidor de PDEV, como sildenafil, vardenafil o taladafil;
(xxvi) un ligando alfa-2-delta como gabapentina o pregabalina; y
(xxvii) un canabinoide.

30. Un anticuerpo antagonista anti-CGRP para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el medicamento comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.

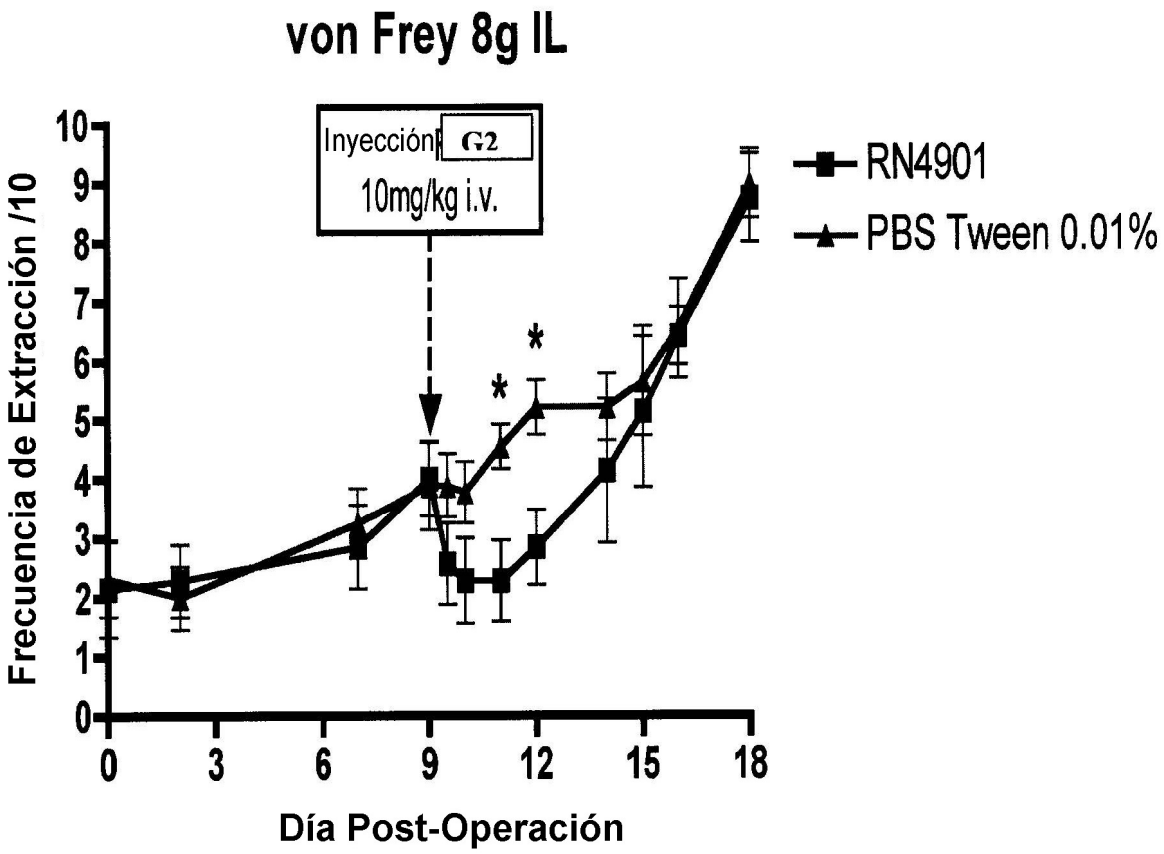

von Frey 8g IL
Inyección G2
10mg/kg i.v.
RN4901
PBS Tween 0.01%
Frecuencia de Extracción /10
Día Post-Operación
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
0
3
6
9
12
15
18
*
*

Figura 1

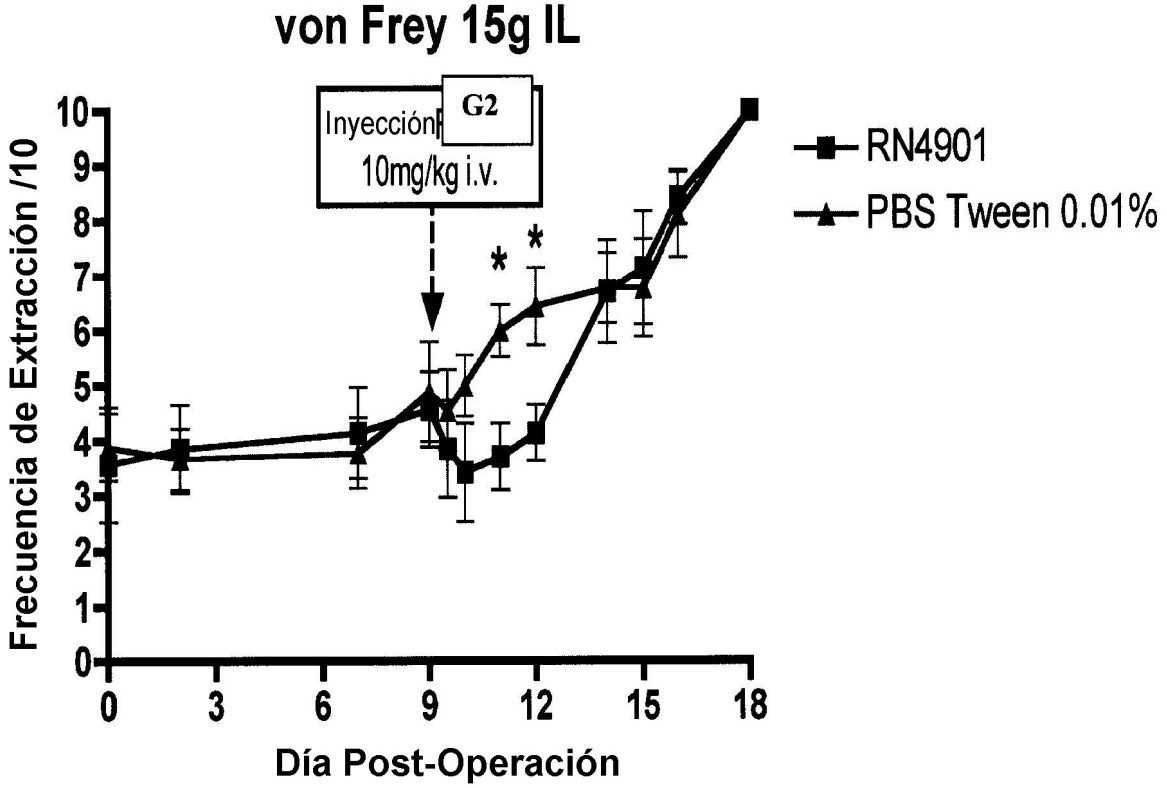

von Frey 15g IL
Inyección
G2
10mg/kg i.v.
RN4901
PBS Tween 0.01%
Frecuencia de Extracción /10
Día Post-Operación
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
0
3
6
9
12
15
18
*
*

Figura 2

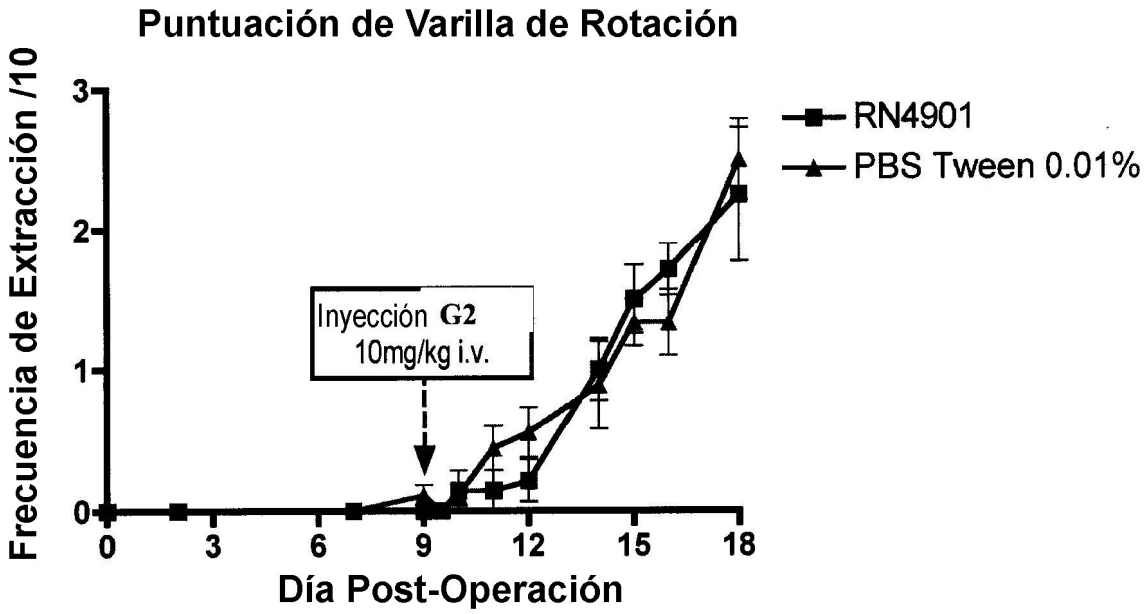

Puntuación de Varilla de Rotación
Frecuencia de Extracción /10
3
2
1
0
0
3
6
9
12
15
18
Día Post-Operación
Inyección G2
10mg/kg i.v.
RN4901
PBS Tween 0.01%

Figura 3

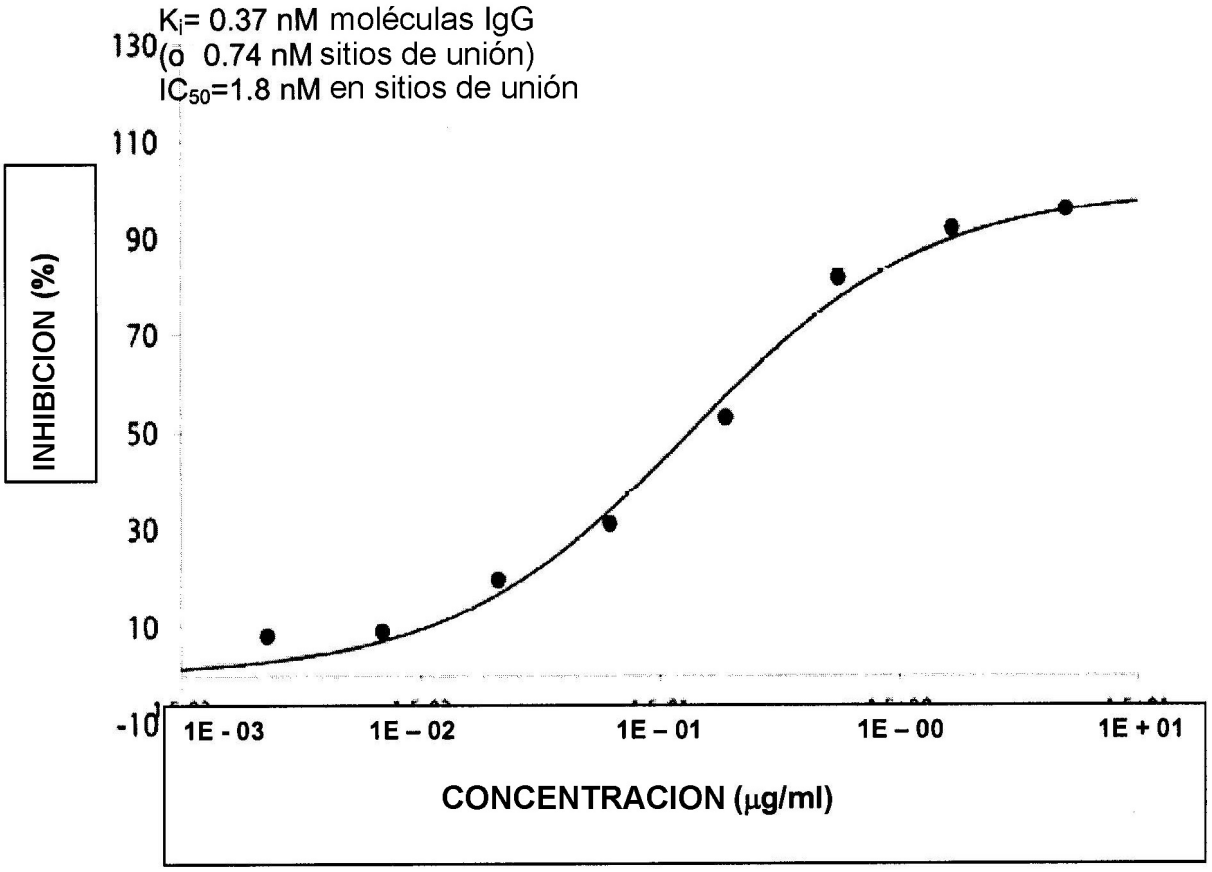

K_i= 0.37 nM moléculas IgG
(o 0.74 nM sitios de unión)
IC_{50}=1.8 nM en sitios de unión
130
110
90
70
50
30
10
-10
INHIBICION (%)
1E - 03
1E – 02
1E – 01
1E – 00
1E + 01
CONCENTRACION (µg/ml)

Figura 4:

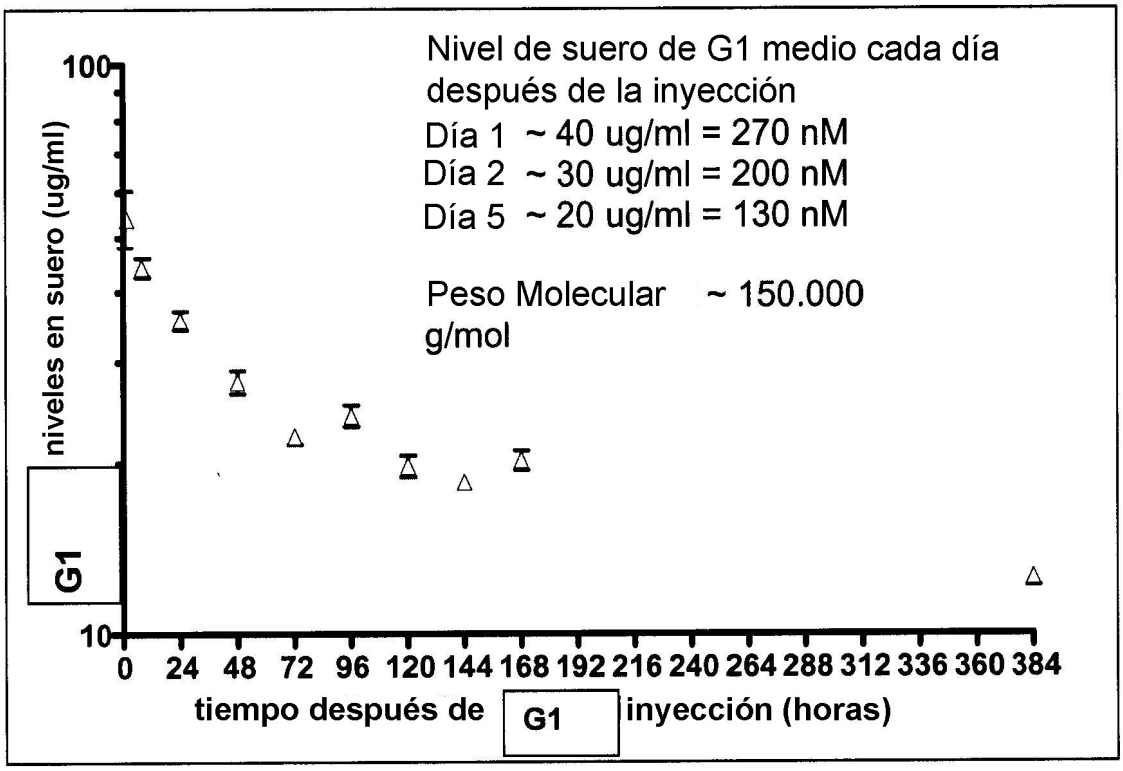

Nivel de suero de G1 medio cada día después de la inyección
Día 1 ~ 40 ug/ml = 270 nM
Día 2 ~ 30 ug/ml = 200 nM
Día 5 ~ 20 ug/ml = 130 nM
Peso Molecular ~ 150.000 g/mol
niveles en suero (ug/ml)
100
10
G1
0 24 48 72 96 120 144 168 192 216 240 264 288 312 336 360 384
tiempo después de G1 inyección (horas)

Figura 5a

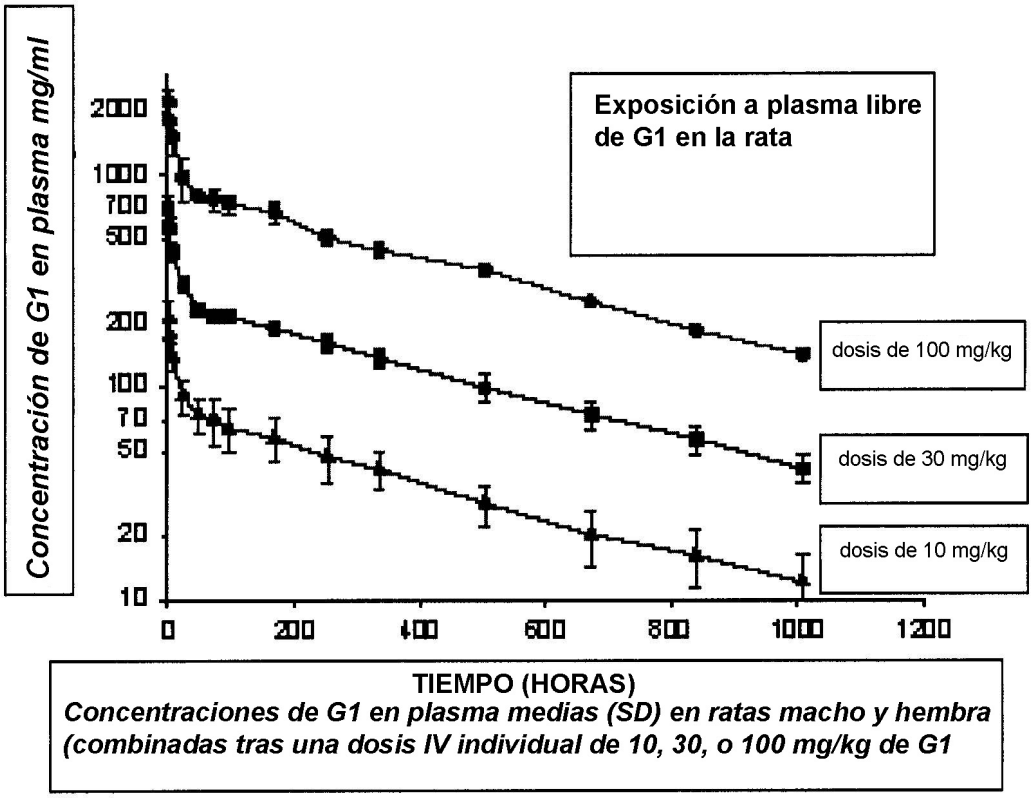

Concentración de G1 en plasma mg/ml
2000
1000
700
500
200
100
70
50
20
10
0
200
400
600
800
1000
1200
Exposición a plasma libre de G1 en la rata
dosis de 100 mg/kg
dosis de 30 mg/kg
dosis de 10 mg/kg
TIEMPO (HORAS)
Concentraciones de G1 en plasma medias (SD) en ratas macho y hembra (combinadas tras una dosis IV individual de 10, 30, o 100 mg/kg de G1

Figura 5b

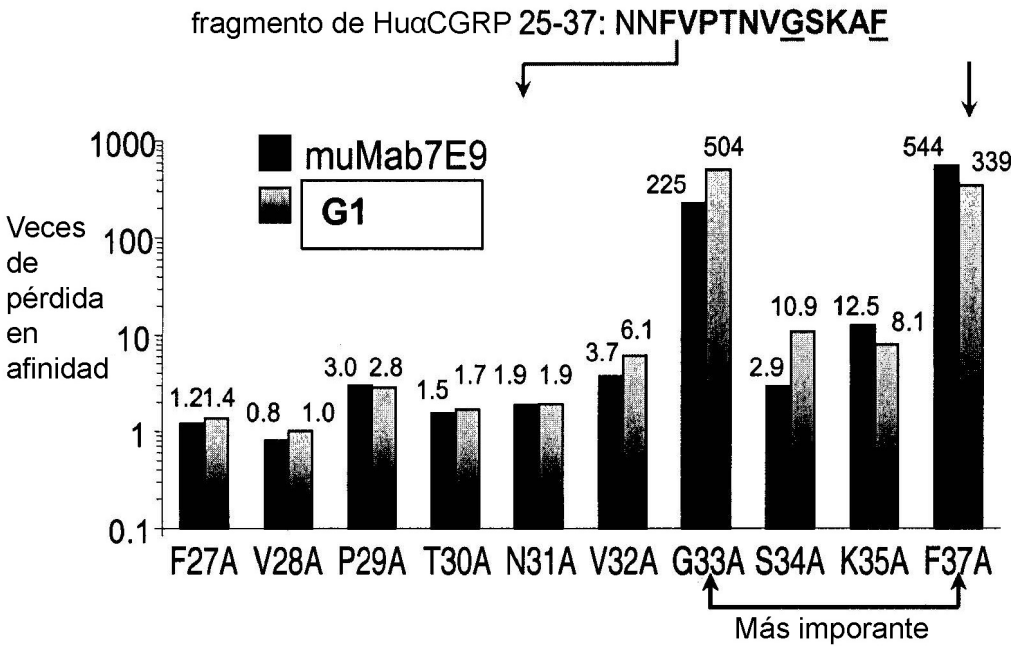

fragmento de HuαCGRP 25-37: NNFVPTNVGSKAF
muMab7E9
G1
Veces de pérdida en afinidad
1000
100
10
1
0.1
1.2
1.4
0.8
1.0
3.0
2.8
1.5
1.7
1.9
1.9
3.7
6.1
225
504
2.9
10.9
12.5
8.1
544
339
F27A
V28A
P29A
T30A
N31A
V32A
G33A
S34A
K35A
F37A
Más imporante

Figura 6

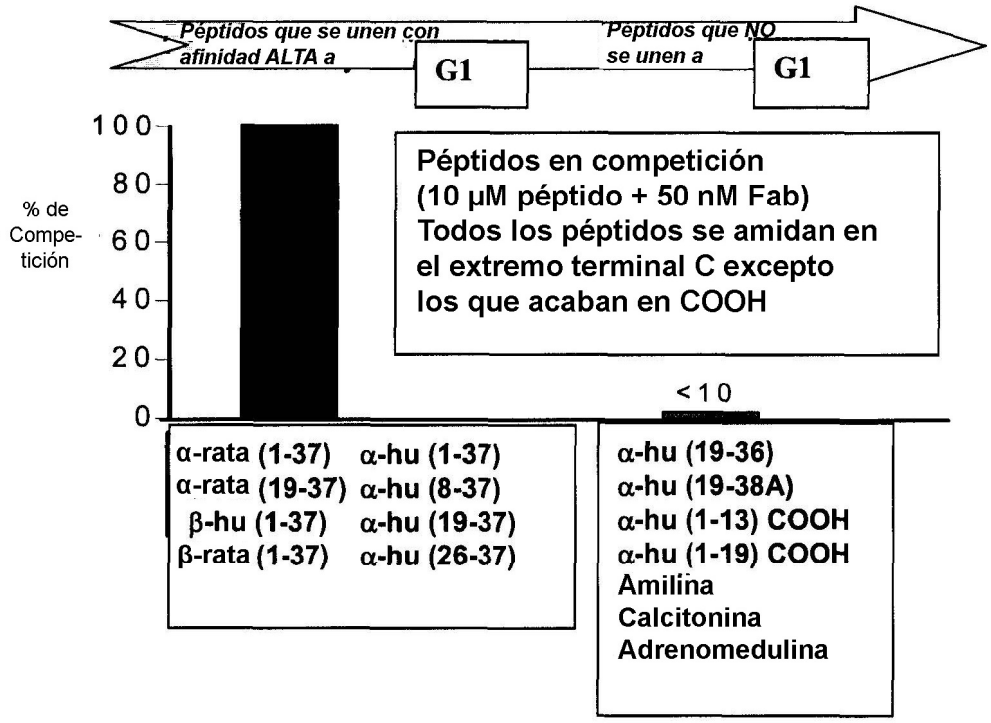

Péptidos que se unen con afinidad ALTA a
G1
Péptidos que NO se unen a
G1
% de Competición
100
80
60
40
20
0
Péptidos en competición
(10 µM péptido + 50 nM Fab)
Todos los péptidos se amidan en el extremo terminal C excepto los que acaban en COOH
< 10
α-rata (1-37)
α-rata (19-37)
β-hu (1-37)
β-rata (1-37)
α-hu (1-37)
α-hu (8-37)
α-hu (19-37)
α-hu (26-37)
α-hu (19-36)
α-hu (19-38A)
α-hu (1-13) COOH
α-hu (1-19) COOH
Amilina
Calcitonina
Adrenomedulina

Figura 7

*NH2-ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNV**GSKAF**-CONH2*
α-CGRP Humano (idéntico a α-CGRP de cynomolgus)

*NH2-ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNFVPTNV**GSKAF**-CONH2*
β-CGRP humano (idéntico a β-CGRP de cynomolgus)

*NH2-SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNV**GSEAF**-CONH2*
α-CGRP de rata (idéntico a α-CGRP de ratón y perro)

*NH2-SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNV**GSKAF**-CONH2*
β-CGRP de rata

*NH2-SCNTATCVTHRLADLLSRSGGVLKDNFVPTDV**GSEAF**-CONH2*
β-CGRP de ratón

*NH2-GCNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNFVPTNV**GSEAF**-CONH2*
CGRP de Conejo

Figura 8

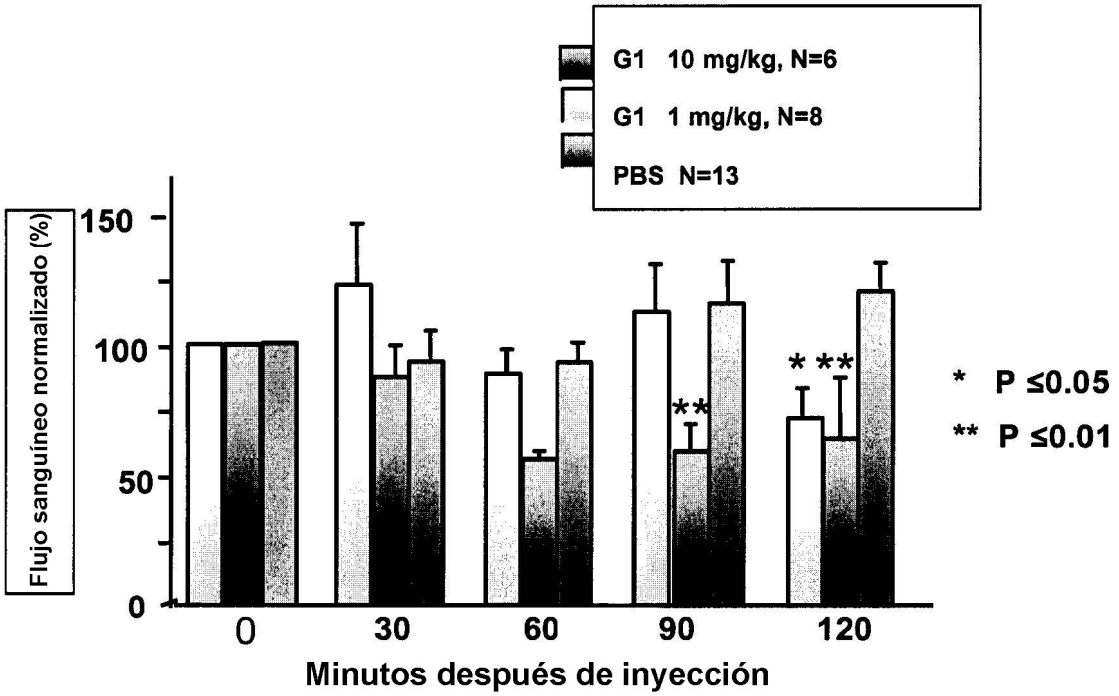

G1 10 mg/kg, N=6
G1 1 mg/kg, N=8
PBS N=13
Flujo sanguíneo normalizado (%)
150
100
50
0
0
30
60
90
120
Minutos después de inyección
* P ≤0.05
** P ≤0.01

Figura 9