

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 893 769**

(51) Int. Cl.:

C07K 16/18 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 17/10 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.01.2018 PCT/EP2018/050146**
(87) Fecha y número de publicación internacional: **11.10.2018 WO18184739**
(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2018 E 18701250 (5)**
(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.09.2021 EP 3411400**

(54) Título: **Tratamiento de enfermedades inflamatorias con inhibidores de la actividad de C5a**

(30) Prioridad:

03.04.2017 EP 17164573
23.06.2017 EP 17177657
07.09.2017 EP 17189938

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.02.2022

(73) Titular/es:

INFLARX GMBH (100.0%)
Winzerlaer Strasse 2
07745 Jena, DE

(72) Inventor/es:

GUO, RENFENG y
RIEDEMANN, NIELS C.

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 893 769 T3

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

DESCRIPCIÓN

Tratamiento de enfermedades inflamatorias con inhibidores de la actividad de C5a

Campo de la invención

La presente invención se refiere al inhibidor de la actividad de C5a, IFX-1 y su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias cutáneas, neutrófilicas en un sujeto.

Antecedentes de la invención

Diana C5a en inflamación

C5a es un producto dividido que abarca 74 aminoácidos de su "molécula madre" C5 y representa un punto final de la cascada de activación del complemento. Puede generarse mediante la activación de al menos tres vías bien descritas (la vía alternativa, la clásica y la vía MBL). Todas las vías se juntan al nivel de C3, formando la convertasa C5 o C5 alternativa que conduce a la escisión de C5 en C5a y C5b. Esta última se une con moléculas de C6, C7, C8 y C9 múltiple que finalmente conducen a la formación de poros en, por ejemplo, membranas bacterianas (complejo de ataque de membrana terminal = MAC). C5a se genera cuando el sistema del complemento se activa en situaciones de inflamación y otros trastornos/enfermedades inmunitarios e inflamatorios.

Entre los productos de activación del complemento, el C5a es uno de los péptidos inflamatorios más potentes, con un amplio espectro de funciones (Guo y Ward, 2005). C5a ejerce sus efectos a través de los receptores de C5a de alta afinidad (C5aR y C5L2) (Ward, 2009). C5aR pertenece a la familia de la rodopsina de receptores acoplados a proteína G con siete segmentos transmembrana; C5L2 tiene una estructura similar, pero parece no estar acoplado a proteína G. Actualmente se cree que C5a ejerce sus funciones biológicas principalmente a través de la interacción C5a-C5aR, ya que se han encontrado pocas respuestas biológicas para la interacción C5a-C5L2. Sin embargo, los informes más recientes demuestran la señalización también a través de la activación de C5L2 (Rittirsch y otros, 2008).

C5aR se expresa ampliamente en células mieloides que incluyen neutrófilos, eosinófilos, basófilos y monocitos, y células no mieloides en muchos órganos, especialmente en el pulmón y el hígado, indicativo de la importancia de la señalización de C5a/C5aR. Se produce un aumento generalizado de la expresión de C5aR durante el inicio de la sepsis, y el bloqueo de la interacción C5a/C5aR por anticuerpos antiC5a o anti-C5aR, o antagonistas de C5aR produce efectos altamente protectores en roedores modelos de sepsis (Czermak y otros, 1999; Huber -Lang y otros, 2001; Riedemann y otros, 2002).

El C5a tiene una variedad de funciones biológicas (Guo y Ward, 2005). C5a es un potente quimioatraventante para los neutrófilos y también tiene actividad quimiotáctica para los monocitos y macrófagos. C5a provoca una explosión oxidativa (consumo de O₂) en los neutrófilos y mejora la fagocitosis y la liberación de enzimas granulares. También se ha descubierto que el C5a es un vasodilatador. Se ha demostrado que C5a participa en la modulación de la expresión de citocinas provenientes de diversos tipos de células y mejora la expresión de moléculas de adhesión en neutrófilos. Las dosis altas de C5a pueden provocar una "desensibilización" quimiotáctica inespecífica de los neutrófilos, lo que provoca una amplia disfunción. Muchas enfermedades inflamatorias son atribuibles a los efectos de C5a, incluida la sepsis, la lesión pulmonar aguda, la enfermedad inflamatoria intestinal, la artritis reumatoide y otras. En el entorno experimental de la sepsis, la exposición de neutrófilos a C5a puede provocar disfunción de los neutrófilos y parálisis de las vías de señalización, lo que lleva a un ensamblaje defectuoso de NADPH oxidasa, parálisis de las cascadas de señalización de MAPK, una gran depresión del estallido oxidativo, fagocitosis y quimiotaxis (Guo y otros, 2006; Huber-Lang y otros, 2002). La apoptosis de los timocitos y la apoptosis retardada de los neutrófilos son dos eventos patogénicos importantes para el desarrollo de la sepsis que dependen de la presencia de C5a. Durante la sepsis experimental, C5a aumenta la expresión de la integrina β2 en los neutrófilos para promover la migración celular a los órganos, una de las principales causas de insuficiencia multiorgánica (MOF). También se encuentra que C5a es atribuible a la activación de la vía de coagulación que ocurre en la sepsis experimental. C5a estimula la síntesis y liberación de leucocitos humanos de citocinas proinflamatorias como TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8 y factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF). Dado que la activación del complemento es un evento que ocurre durante el inicio de la inflamación aguda, C5a puede entrar en juego antes de la aparición de la mayor parte de la "tormenta de citocinas" inflamatoria. Parece que C5a juega un papel clave en la organización y amplificación del desempeño de la red de citocinas y la formación del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS).

En la red reguladora inmunológica que sigue a la inmunidad adaptativa, C5a afecta la comunicación cruzada entre las células dendríticas (DC) y las células δεT, y esto puede dar lugar a una gran producción de mediadores inflamatorios como IL-17 (Xu y otros, 2010). Se ha establecido y definido un papel esencial para C5a en la generación de respuestas Th17 patógenas en el lupus eritematoso sistémico (LES) (Pawaria y otros, 2014). Además, se ha informado que C5a es un regulador clave para las células Treg que ofrece un poderoso efecto supresor para la propagación e inducción de Treg ((Strainic y otros, 2013). Dado el hecho de que Treg y TH17 son los actores esenciales en la situación de las enfermedades autoinmunes, se esperaría que la inhibición de la señalización de C5a redujera significativamente el estado inmunitario hiperactivo en las enfermedades autoinmunes.

El IFX-1 es un anticuerpo IgG4 monoclonal químérico que se une específicamente al producto C5a de escisión del complemento humano soluble. IFX-1 está compuesto por 1328 aminoácidos y tiene un peso molecular aproximado de 148,472 Dalton. Las secuencias de CDR y FR de IFX-1 se divultan en la Tabla 1 más adelante.

5 El IFX-1 se expresa en una línea celular CHO de mamífero como proteína recombinante y finalmente se formula en una solución salina con pH regulado con fosfato para administración intravenosa. La unión de este anticuerpo a C5a humano facilita un bloqueo altamente eficaz de los efectos biológicos inducidos por C5a al inhabilitar la unión de C5a y al reaccionar con sus correspondientes receptores unidos a células.

10 Se llevaron a cabo diversos estudios no clínicos para evaluar los aspectos farmacológicos y toxicológicos de IFX-1, que se pueden dividir en pruebas *in vitro/ex vivo* y estudios *in vivo* que incluyen estudios de toxicología de GLP en monos cinomolgos (usando IFX-1). Ninguna de las pruebas y estudios no clínicos realizados reveló ningún problema toxicológico o de seguridad para IFX-1. El ensayo de fase I en humanos indicó que los parámetros de laboratorio de seguridad, los signos vitales y los parámetros del ECG no mostraron cambios clínicamente relevantes relacionados con el tiempo o la dosis.

15 El análisis *in vitro* de IFX-1 demuestra una fuerte capacidad de unión a C5a humano soluble, así como una alta actividad de bloqueo de los efectos biológicos inducidos por C5a, como la liberación de lisozima de los neutrófilos humanos o el aumento de CD11b en neutrófilos en sangre humana entera. Un anticuerpo IFX-1 alcanza la capacidad de neutralizar los efectos de 2 moléculas C5a con una eficacia cercana al 100% en entornos experimentales *in vitro*. Los ensayos clínicos con IFX-1 han estado en desarrollo para probar su eficacia clínica en varias enfermedades inflamatorias, incluida la disfunción de órganos sépticos y la cirugía cardíaca compleja.

20 Neutrófilos

Los neutrófilos, células diferenciadas terminalmente con una vida útil corta en circulación, son los leucocitos más abundantes en el cuerpo humano. Como primera línea de defensa contra los microorganismos invasores, los neutrófilos se caracterizan por su capacidad para actuar como células fagocíticas, liberar enzimas líticas de sus gránulos y producir especies reactivas de oxígeno tras la estimulación. Además de los productos microbianos, otros estímulos como el complejo inmune también pueden inducir el estallido respiratorio en los neutrófilos, lo que lleva a una mayor inflamación y al reclutamiento de células inflamatorias (Kaplan, 2013).

25 Despues de infiltrarse en tejidos inflamados, los neutrófilos se involucran en muchos otros tipos de células, tales como macrófagos, células dendríticas (DC), células asesinas naturales, linfocitos y células madre mesenquimales; regulan las respuestas inmunes innatas y adaptativas. Por ejemplo, los neutrófilos pueden modular la maduración de las DC y la proliferación y polarización de las células T, y también pueden cebar directamente las células T auxiliares de tipo 1 y células T auxiliares de tipo 17 específicas de antígeno (Abi Abdallah y otros, 2011). Diversos estímulos inducen la desgranulación de neutrófilos, entre ellos C5a, formil-metionil-leucil-fenilalanina (FMLP), lipopolisacárido, factor activador de plaquetas y factor de necrosis tumoral (TNF) (Kaplan, 2013). El contenido liberado de la desgranulación y las especies oxidativas junto con las citocinas y quimiocinas resultantes de la activación de los neutrófilos son los principales mediadores inflamatorios que causan daño tisular, y se cree que este mecanismo es atribuible a muchos tipos de lesión tisular inflamatoria.

Hidradenitis supurativa (HS)

30 La HS es un trastorno cutáneo devastador crónico que afecta a áreas ricas en glándulas apocrinas y se considera una de las enfermedades inflamatorias cutáneas asociadas a neutrófilos. Aparecen nódulos en las áreas afectadas y progresivamente se hinchan y se rompen con la liberación de pus. Este proceso ocurre repetidamente y conduce a la formación del tracto sinusal y cicatrices (Jemec, 2004). Este curso de la enfermedad crea una situación frustrante para los pacientes, pero también para los médicos. Se informa que la prevalencia puntual oscila entre el 1% y el 4% (Jemec y otros, 1996).

35 La fisiopatología exacta de la HS no está bien definida. El tabaquismo, los hábitos alimentarios y la predisposición genética se han relacionado con la HS (Kurzen y otros, 2008; Slade y otros, 2003). El porcentaje de células NK aumentó y el de linfocitos CD4 disminuyó en comparación con los controles sanos, lo que probablemente implica la existencia de una predilección autoinmune por el trastorno. Se ha encontrado que IL-1 β e IL-17 están aumentadas en la lesión de HS, y se asocian con la activación del inflamasoma (Lima y otros, 2016). La hidradenitis supurativa (HS) se presenta con el elevado número de infiltrados de neutrófilos en la piel inflamada, especialmente en la etapa tardía de la enfermedad (Lima y otros, 2016; Marzano, 2016). Los neutrófilos activados podrían ser un tipo de célula efectora importante que causa daño tisular a través de un efecto nocivo directo o un efecto regulador indirecto hacia otras células de efecto, como las células T activas y TH17 en esta situación de enfermedad.

40 En los últimos años se ha creado una hipótesis sobre la implicación de algún mecanismo autoinmune o autoinflamatorio en la patogénesis de la HS. La hipótesis se ve reforzada por los resultados positivos de la administración de antagonistas del TNF en estudios prospectivos controlados con placebo, que dan como resultado la aprobación de Adalimumab (un anticuerpo dirigido contra el factor de necrosis tumoral α) en pacientes con HS de moderada a grave. Una pregunta importante, aún sin respuesta, es cómo se reclutan los neutrófilos en la lesión cutánea afectada y en qué medida los neutrófilos activados contribuirían al desarrollo de la enfermedad.

La amplia gama de posibles mecanismos patogénicos sugeridos por diferentes estudios puede implicar que la HS está asociada con mecanismos del huésped más que con factores exógenos. Teniendo en cuenta la paradoja de que las terapias tanto antiinfecciosas (antibióticos) como proinfecciosas (anti-TNF, corticosteroides, fármacos inmunsupresores) pueden ser útiles, la HS puede aparecer como una enfermedad autoinflamatoria basada en un defecto en la inmunidad innata del folículo piloso. (Revuz, 2009), que está respaldada por el hecho de que las citocinas proinflamatorias como la interleucina (IL)-1 β y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) están marcadamente aumentadas en la piel lesional y perilesional (Wollina y otros, 2013).

En 2017 se anunció un ensayo clínico de fase II que investiga el uso de la inhibición del complemento por IFX-1 en pacientes con HS, sin revelar ningún resultado del ensayo. La diana principal era evaluar la seguridad y la tolerabilidad de IFX-1. Además, el ensayo tiene como diana caracterizar la farmacocinética y la farmacodinámica de IFX-1, así como generar datos preliminares sobre la eficacia de IFX-1.

Dermatosis neutrofílicas

Las dermatosis neutrofílicas (ND) son un grupo de trastornos caracterizados por lesiones cutáneas para las que el examen histológico revela intensos infiltrados inflamatorios compuestos principalmente por neutrófilos sin evidencia de infección. Los ND incluyen principalmente síndrome de Sweet (SS), pioderma gangrenoso (PG), dermatosis pustulosa subcorneal (SPD), otras entidades bien definidas y sus formas atípicas o transicionales (Prat y otros, 2014). La hidradenitis supurativa (HS) se ha asignado recientemente a la familia de las ND en función del elevado número de infiltrados de neutrófilos observados en la piel inflamada (Lima y otros, 2016; Marzano, 2016).

El pioderma gangrenoso (PG) y la hidradenitis supurativa (HS) son dermatosis neutrofílicas prototípicas que se consideran enfermedades autoinflamatorias de origen con el sello distintivo de la acumulación de neutrófilos en la piel (Braun-Falco y otros, 2012; Marzano y otros, 2014). El síndrome autoinflamatorio representa un grupo emergente de afecciones inflamatorias que se diferencian de los trastornos autoinmunitarios, alérgicos e infecciosos. Desde una perspectiva fisiopatológica, todos los síndromes autoinflamatorios como PAPA (artritis piógena, PG y acné), PASH (PG, acné e hidradenitis supurativa) o PAPASH (artritis piógena, acné, PG e hidradenitis supurativa) comparten mecanismos comunes que consisten en sobre-activación del sistema inmunitario innato e inflamación cutánea rica en neutrófilos 'estériles' (Cugno y otros, 2017).

Neutrófilos y enfermedades autoinmunes

Las enfermedades autoinmunes se definen por la diferenciación defectuosa de moléculas propias y no propias, lo que conduce a un reconocimiento inadecuado de las propias moléculas y tejidos como estructuras extrañas, y al ataque inmunitario concomitante contra los órganos del huésped. La patogenia de las enfermedades autoinmunes generalmente se puede dividir en dos fases, fase de inmunización y fase efectora. La fase de inmunización se caracteriza por la aparición de linfocitos T autorreactivos. A continuación, esas células T desencadenan una respuesta secundaria que conduce a una fase de daño tisular mediante la activación de diversos otros tipos de células (células B, células T citotóxicas, células NK, neutrófilos, macrófagos, osteoclastos, fibroblastos, etc.). La activación de esas células efectoras por las células T autorreactivas puede considerarse como la fase efectora que puede estar mediada por múltiples niveles, incluida la producción de autoanticuerpos, redes de citocinas o contactos directos célula-célula (Nemeth y Mocsai, 2012).

El papel de los neutrófilos en el desarrollo fisiopatológico de enfermedades autoinmunes se ha definido de forma limitada, pero cada vez más apreciada. Los neutrófilos podrían participar en las múltiples etapas del proceso de la enfermedad autoinmune, incluida la presentación de antígenos, la regulación de la actividad de otros tipos de células inmunes y el daño tisular directo. Los neutrófilos pueden exponer/liberar autoantígenos cuando se activan, o cuando mueren por apoptosis, o durante la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET). También pueden contribuir a la deposición tisular de autoanticuerpos o, como tipo de célula efectora, pueden inducir daño tisular por sí mismos. Estudios acumulativos han demostrado que los neutrófilos desempeñan un papel activo en el desarrollo de enfermedades autoinmunes, como artritis reumatoide (AR), lupus eritematoso sistémico (LES), penigoide ampolloso, epidermolisis ampollosa adquirida, vasculitis asociada a ANCA, fiebre mediterránea familiar, trastornos periódicos asociados con criopirina (CAPS) y gota, etc. (Nemeth y Mocsai, 2012; Nemeth y otros, 2016). Al ser la piel una diana fácil para las respuestas inmunitarias, la inflamación cutánea es uno de los síndromes más frecuentes que presentan estas enfermedades autoinmunes.

Problemas técnicos en que se basa la presente invención

Como se explicó anteriormente, existía una necesidad en la técnica anterior de terapias efectivas para el tratamiento de dermatosis neutrofílicas, tales como Hidradenitis supurativa (HS).

Los presentes inventores han descubierto ahora sorprendentemente que las moléculas que inhiben la señalización de C5a, es decir, el anticuerpo anti-C5a IFX-1, son excepcionalmente adecuadas para el tratamiento de la hidradenitis supurativa. Los presentes inventores han estudiado adicionalmente el mecanismo fisiológico que conduce a la activación de los neutrófilos y han descubierto que C5a es el impulsor clave de la activación de los neutrófilos.

Resumen de la invención

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria neutrofílica cutánea en un sujeto, donde el compuesto es un inhibidor de la actividad C5a, y la enfermedad inflamatoria cutánea neutrofílica se selecciona del grupo que consiste en hidradenitis supurativa (HS); PASH (PG, acné e hidradenitis supurativa); PAPASH (artritis piógena, acné, PG e hidradenitis supurativa), donde el 5 inhibidor de la actividad de C5a es el anticuerpo IFX-1 o su fragmento de unión al antígeno que comprende una cadena pesada variable que consta en el siguiente orden de las secuencias de aminoácidos de FR1 de SEQ ID NO: 18, CDR1 de SEQ ID NO: 14, FR2 de SEQ ID NO: 19, CDR2 de SEQ ID NO: 10, FR3 de SEQ ID NO: 20, CDR3 de SEQ ID NO: 6 y FR4 de SEQ ID NO: 21 y una cadena ligera variable que consiste en el siguiente orden de las secuencias de aminoácidos de FR1 de SEQ ID NO: 22, CDR1 de SEQ ID NO: 16, FR2 de SEQ ID NO: 23, CDR2 de SEQ ID NO: 12, 10 FR3 de SEQ ID NO: 24, CDR3 de SEQ ID NO: 8 y FR4 de SEQ ID NO: 25.

Este resumen de la invención no describe necesariamente todas las características de la presente invención. Otras formas de realización serán evidentes a partir de una evaluación de la siguiente descripción detallada.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Actividad de bloqueo de IFX-1 para la regulación positiva de CD11b inducida por C5a (rhC5a) humana recombinante en neutrófilos sanguíneos. IFX-1-004 e IFX-1-012 representan dos lotes de producción diferentes. Se 15 incubó sangre humana entera con regulador de pH, anticuerpo solo, rhC5a solo o combinaciones de diferentes concentraciones de anticuerpo y rhC5a. Después de la incubación, las células se tiñeron con CD11b anti-ratón: FITC y se analizó el MFI de CD11b mediante citometría de flujo. Los resultados se presentan como media ± SD. El porcentaje de actividad de bloqueo de IFX-1 de la expresión de CD11b inducida por C5a está marcado (flecha). Las 20 diferencias estadísticas se calcularon mediante ANOVA de una vía, los valores de p de p <0.05 fueron estadísticamente significativos.

Figura 2. Actividad de bloqueo de IFX-1 en la regulación positiva de CD11b impulsada por C5a (eC5a) endógena en 25 neutrófilos. Se utilizó plasma humano activado por zimosán (ZAP) como fuente de eC5a. La sangre entera se incubó con regulador de pH, IFX-1 solo, ZAP solo o combinaciones de IFX-1 y ZAP. Después de la incubación, las células se tiñeron con CD11b anti-ratón: FITC y se analizaron mediante citometría de flujo. Los resultados se presentan como la media ± SEM. El porcentaje de actividad de bloqueo de IFX-1 de la expresión de CD11b inducida por C5a está marcado (flecha). Las diferencias estadísticas se calcularon mediante ANOVA de una vía, los valores de p de p <0.05 fueron 30 estadísticamente significativos.

Figura 3. Activación de neutrófilos en sangre por actividad de bloqueo de zimosán e IFX-1. La sangre entera se incubó 35 con HBSS, rhC5a y zymosan A solo, o combinaciones de diferentes concentraciones de IFX-1 y rhC5a o zymosan A. Después de la incubación, las células se tiñeron con CD11b anti-ratón: FITC y se analizó el MFI de CD11b mediante citometría de flujo. Los resultados se presentan como media ± SD. El porcentaje de actividad de bloqueo de IFX-1 de la expresión de CD11b inducida por C5a está marcado (flecha). Las 40 diferencias estadísticas se calcularon mediante ANOVA de una vía, los valores de p de p <0.05 fueron estadísticamente significativos.

Figura 4. IFX-1 inhibe la generación, inducida por zimosán, de IL-8 en sangre humana entera. Las concentraciones de 45 IL-8 se obtuvieron mediante ELISA después de la incubación de sangre humana entera con diferentes concentraciones de zimosán A como se indica en el eje x en presencia (círculos vacíos) o ausencia (círculos llenos) de IFX-1. Los resultados se presentaron como media ± SD.

Figura 5. Concentraciones de C3a (Fig. 5A), C5a (Fig. 5B) y C5b-9 (Fig. 5C) en el plasma de 14 controles sanos y de 50 54 pacientes con hidradenitis supurativa (HS). Los círculos denotan valores atípicos y los asteriscos denotan extremos. Los valores de P simbolizan diferencias significativas entre pacientes y controles.

Figura 6. Efecto del plasma de HS en la activación de neutrófilos en sangre y el papel potencial de C5a. Se incubaron 45 muestras de plasma de HS con plasma humano en presencia y ausencia de IFX-1, y se determinó la expresión de CD11b en neutrófilos sanguíneos mediante análisis de citometría de flujo. Los niveles de C5a en las muestras de control y HS se etiquetaron en la tabla insertada.

Figura 7. Respuesta de HiSCR después del tratamiento con IFX-1 en pacientes con HS. El respondedor HiSCR se define como una reducción ≥ 50% en el recuento de lesiones inflamatorias (abscesos + nódulos inflamatorios) y sin aumento de abscesos o fistulas drenantes en comparación con el valor inicial.

Descripción detallada de la invención

50 Definiciones

Antes de que la presente invención se describa en detalle a continuación, debe entenderse que esta invención no se limita a la metodología, protocolos y reactivos particulares descritos en este documento, ya que estos pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en este documento tiene el propósito de describir únicamente 55 formas de realización particulares, y no pretende limitar el alcance de la presente invención, que estará limitada únicamente por las reivindicaciones adjuntas. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y

científicos usados en este documento tienen los mismos significados que los entendidos comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

5 Preferiblemente, los términos usados en este documento se definen como se describe en "A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)", Leuenberger, H.G.W, Nagel, B. y Kölbl, H. eds. (1995), Helvetica Chimica Acta, CH-4010 Basilea, Suiza.

A lo largo de esta especificación y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera lo contrario, se entenderá que la palabra "comprender" y variaciones tales como "comprende" y "que comprende" implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros establecidos o etapas, pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

10 Se citan varios documentos (por ejemplo: patentes, solicitudes de patente, publicaciones científicas, especificaciones del fabricante, instrucciones, presentaciones de secuencia de números de acceso de GenBank, etc.) a lo largo del texto de esta especificación. Nada en este documento debe interpretarse como una admisión de que la invención no tiene derecho a preceder tal divulgación por ser una invención anterior.

15 Secuencias: todas las secuencias a las que se hace referencia en el presente documento se divultan en el listado de secuencias adjunto que, con todo su contenido y descripción, es parte de esta especificación.

En el contexto de la presente invención, C5a se refiere particularmente a C5a humano. El C5a humano es un péptido de 74 aminoácidos con la siguiente secuencia de aminoácidos:

TLQKKIEEIA AKYKHSVVKK CCYDGACVNN DETCEQRAAR ISLGPRCIKA
FTECCVVASQ L RANISHKDM QLGR (SEQ ID NO: 1).

La secuencia de aminoácidos del C5 humano se puede encontrar con el número de acceso UniProtKB P01031 (C5_HUMAN).

Como se usa en este documento, el término "inhibidor de la actividad de C5a" se refiere a cualquier compuesto que de alguna manera reduce la actividad de C5a. Esta reducción de la actividad se puede lograr reduciendo directa o indirectamente la concentración de C5a, o reduciendo la actividad de C5a, o evitando que C5a ejerza sus efectos sobre uno o más de sus receptores (por ejemplo, sobre C5aR o C5L2), o reduciendo la concentración o actividad de uno o más receptores de C5a.

En el contexto de la presente invención, la expresión "receptor de C5a" se refiere a cualquier ligando potencial de unión a C5a en la superficie celular, especialmente a cualquier proteína receptora a la que C5a pueda unirse y provocar una reacción en dicho receptor (por ejemplo, activación o inhibición del receptor). El término "receptor de C5a" abarca particularmente los dos receptores C5aR y C5L2. Los nombres alternativos para C5aR son C5aR1 y CD88. Un nombre alternativo para C5L2 es C5aR2.

En el contexto de la presente invención, la expresión "ligando proteico" se refiere a cualquier molécula compuesta de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, independientemente del tamaño total de la molécula, y que sea capaz de unirse específicamente a otra molécula. Por consiguiente, la expresión "ligando proteico" comprende oligopéptidos (\leq 100 aminoácidos) y polipéptidos ($>$ 100 aminoácidos). La expresión "ligando proteico" también comprende péptidos cíclicos, independientemente de su tamaño. La expresión "ligando proteico" abarca particularmente anticuerpos, fragmentos de anticuerpos que se unen a抗原os.

Como se usa en este documento, se considera que un primer compuesto (por ejemplo, un ligando proteíco) se "une" a un segundo compuesto (por ejemplo, una proteína diana), si tiene una constante de disociación K_d a dicho segundo compuesto de 1 mM o menos, preferiblemente 100 μM o menos, preferiblemente 50 μM o menos, preferiblemente 30 μM o menos, preferiblemente 20 μM o menos, preferiblemente 10 μM o menos, preferiblemente 5 μM o menos, más preferiblemente 1 μM o menos, más preferiblemente 900 nM o menos, más preferiblemente 800 nM o menos, más preferiblemente 700 nM o menos, más preferiblemente 600 nM o menos, más preferiblemente 500 nM o menos, más preferiblemente 400 nM o menos, más preferiblemente 300 nM o menos, más preferiblemente 200 nM o menos, incluso más preferiblemente 100 nM o menos, incluso más preferiblemente 90 nM o menos, incluso más preferiblemente 80 nM o menos, incluso más preferiblemente 70 nM o menos, incluso más preferiblemente 60 nM o menos, incluso más preferiblemente 50 nM o menos, incluso más preferiblemente 40 nM o menos, incluso más preferiblemente 30 nM o menos, incluso más preferiblemente 20 nM o menos, e incluso más preferiblemente 10 nM o menos.

El término "unión" según la invención se refiere preferiblemente a una unión específica. "Unión específica" significa que un compuesto (por ejemplo, un ligando proteíco) se une más fuerte a una diana tal como un epítopo para el que es específico en comparación con la unión a otra diana. Un compuesto se une más fuerte a una primera diana en comparación con una segunda diana, si se une a la primera diana con una constante de disociación (K_d) que es menor que la constante de disociación de la segunda diana. Preferiblemente, la constante de disociación (K_d) para la diana a la que se une específicamente el compuesto es más de 10 veces, preferiblemente más de 20 veces, más

preferiblemente más de 50 veces, incluso más preferiblemente más de 100 veces, 200 veces, 500 veces o 1000 veces menor que la constante de disociación (K_d) para la diana a la que el compuesto no se une específicamente.

Como se usa en este documento, el término " K_d " (generalmente medido en "mol/L", a veces abreviado como "M") pretende referirse a la constante de equilibrio de disociación de la interacción particular entre un compuesto (por ejemplo, un ligando proteico) y una molécula diana.

Los procedimientos para determinar las afinidades de unión de los compuestos, es decir, para determinar la constante de disociación K_D , son conocidos por un experto en la técnica y pueden seleccionarse, por ejemplo, entre los siguientes procedimientos conocidos en la técnica: tecnología basada en Resonancia plasmónica de superficie (SPR), interferometría de biocapa (BLI), ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), citometría de flujo, calorimetría de titulación isotérmica (ITC), ultracentrifugación analítica, radioinmunoensayo (RIA o IRMA) y quimioluminiscencia mejorada (ECL). Normalmente, la constante de disociación K_D se determina a 20°C, 25°C, 30°C o 37°C. Si no se indica específicamente de otro modo, los valores de K_D enumerados en este documento se determinan a 20°C mediante ELISA.

Un "epítopo", también conocido como determinante antigenético, es la parte de una macromolécula que es reconocida por el sistema inmunitario, específicamente por anticuerpos, células B o células T. Como se usa en el presente documento, un "epítopo" es la parte de una macromolécula capaz de unirse a un compuesto (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo) como se describe en el presente documento. En este contexto, el término "unión" se refiere preferiblemente a una unión específica. Los epítulos normalmente consisten en agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar y normalmente tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Los epítulos conformacionales y no conformacionales se pueden distinguir en que en presencia de disolventes desnaturalizantes se pierde la unión al primero pero no al segundo.

Un "parátopo" es la parte de un anticuerpo que se une al epítopo. En el contexto de la presente invención, un "parátopo" es la parte de un compuesto (por ejemplo, un ligando proteico) como se describe en el presente documento que se une al epítopo.

El término "anticuerpo" se refiere típicamente a una glicoproteína que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, o una parte de la misma que se une al antígeno. El término "anticuerpo" también incluye todas las formas recombinantes de anticuerpos, en particular de los anticuerpos descritos en este documento, por ejemplo, anticuerpos expresados en procariotas, anticuerpos no glicosilados, anticuerpos expresados en eucariotas (por ejemplo, células CHO), anticuerpos glicosilados y cualquier fragmento y derivado de anticuerpo de unión a antígeno como se describe más adelante. Cada cadena pesada está compuesta por una región variable de cadena pesada (abreviada aquí como VH o V_H) y una región constante de cadena pesada. Cada cadena ligera está compuesta por una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como VL o V_L) y una región constante de cadena ligera. Las regiones VH y VL pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada VH y VL está compuesto por tres CDR y cuatro FR, dispuestos desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar en la unión de la inmunoglobulina a tejidos o factores del huésped, incluidas diversas células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema del complemento clásico.

El término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de unión"), como se usa en el presente documento, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente a un antígeno. Se ha demostrado que la función de unión al antígeno de un anticuerpo puede realizarse mediante fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Los ejemplos de fragmentos de unión abarcados dentro del término "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo incluyen (i) fragmentos Fab, fragmentos monovalentes que consisten en los dominios VL, VH, CL y CH; (ii) fragmentos F(ab')₂, fragmentos bivalentes que comprenden dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) fragmentos Fd que consisten en los dominios VH y CH; (iv) fragmentos Fv que consisten en los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo, (v) fragmentos dAb (Ward et al., (1989) Nature 341: 544-546), que consisten en un dominio VH; (vi) regiones determinantes de complementariedad (CDR) aisladas, y (vii) combinaciones de dos o más CDR aisladas que pueden unirse opcionalmente mediante un enlazador sintético. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, están codificados por genes separados, estos pueden unirse utilizando procedimientos recombinantes mediante un enlazador sintético que les permite hacerse como una única cadena de proteína en la que las regiones VL y VH se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena sencilla (scFv); véase, por ejemplo, Bird et al. (1988) Science 242: 423-426; y Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883). También se pretende que dichos anticuerpos de cadena sencilla estén incluidos dentro del término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo. Un ejemplo adicional es una proteína de fusión de inmunoglobulina de dominio de unión que comprende (i) un polipéptido de dominio de unión que se fusiona con un polipéptido de la región bisagra de inmunoglobulina, (ii) una región constante CH2 de cadena pesada de inmunoglobulina fusionada a la región bisagra, y (iii) una región constante CH3 de la cadena pesada de inmunoglobulina fusionada con la región constante CH2. El

polipéptido del dominio de unión puede ser una región variable de cadena pesada o una región variable de cadena ligera. Las proteínas de fusión de inmunoglobulina de dominio de unión se describen además en las publicaciones US 2003/0118592 y US 2003/0133939. Estos fragmentos de anticuerpos se obtienen usando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, y los fragmentos se seleccionan para determinar su utilidad de la misma manera que los anticuerpos intactos.

Por tanto, el término "anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno", como se usa en este documento, se refiere a moléculas de inmunoglobulina y porciones inmunológicamente activas de moléculas de inmunoglobulina; es decir, moléculas que contienen un sitio de unión a antígeno que se une inmunoespecíficamente a un antígeno. También están comprendidas proteínas de tipo inmunoglobulina que se seleccionan mediante técnicas que incluyen, por ejemplo, la presentación de fagos para unirse específicamente a una molécula diana o epítopo diana. Las moléculas de inmunoglobulina de la invención pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, preferiblemente IgG2a e IgG2b, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase de molécula de inmunoglobulina.

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se pueden utilizar en la invención pueden ser de cualquier origen animal, incluidos pájaros y mamíferos. Preferiblemente, los anticuerpos o fragmentos son de origen humano, chimpancé, roedor (por ejemplo, ratón, rata, cobaya o conejo), pollo, pavo, cerdo, oveja, cabra, camello, vaca, caballo, burro, gato o perro. Se prefiere particularmente que los anticuerpos sean de origen humano o murino. Los anticuerpos de la invención también incluyen moléculas químicas en las que una región constante de anticuerpo derivada de una especie, preferiblemente humana, se combina con el sitio de unión al antígeno derivado de otra especie, por ejemplo, ratón. Además, los anticuerpos de la invención incluyen moléculas humanizadas en las que los sitios de unión al antígeno de un anticuerpo derivado de una especie no humana (por ejemplo, de ratón) se combinan con regiones de marco y constantes de origen humano.

Como se exemplifica en el presente documento, los anticuerpos de la invención pueden obtenerse directamente de hibridomas que expresan el anticuerpo, o pueden clonarse y expresarse de manera recombinante en una célula huésped (por ejemplo, una célula CHO o una célula linfocítica). Otros ejemplos de células huésped son microorganismos, como E. coli, y hongos, como levaduras. Alternativamente, se pueden producir de forma recombinante en una planta o animal no humano transgénico.

El término "anticuerpo químérico" se refiere a aquellos anticuerpos en los que una porción de cada una de las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera es homóloga a las secuencias correspondientes en los anticuerpos derivados de una especie particular o perteneciente a una clase particular, mientras que el segmento restante de la cadena es homólogo a las secuencias correspondientes en otra especie o clase. Normalmente, la región variable de las cadenas ligera y pesada imita las regiones variables de los anticuerpos derivados de una especie de mamíferos, mientras que las porciones constantes son homólogas a las secuencias de anticuerpos derivados de otra. Una clara ventaja de tales formas químéricas es que la región variable puede derivarse convenientemente de fuentes conocidas actualmente usando células B fácilmente disponibles o hibridomas de organismos hospedadores no humanos en combinación con regiones constantes derivadas de, por ejemplo, preparaciones de células humanas. Si bien la región variable tiene la ventaja de que es fácil de preparar y la especificidad no se ve afectada por la fuente, es menos probable que la región constante, que es humana, provoque una respuesta inmune de un sujeto humano cuando se inyectan los anticuerpos, de lo que provocaría la región constante proveniente de una fuente no humana. Sin embargo, la definición no se limita a este ejemplo en particular.

El término "anticuerpo humanizado" se refiere a una molécula que tiene un sitio de unión al antígeno que se deriva sustancialmente de una inmunoglobulina proveniente de una especie no humana, en donde la estructura de inmunoglobulina restante de la molécula se basa en la estructura y/o secuencia de una inmunoglobulina humana. El sitio de unión al antígeno puede comprender dominios variables completos fusionados en dominios constantes o solo las regiones determinantes de complementariedad (CDR) injertadas en regiones marco apropiadas en los dominios variables. Los sitios de unión a antígenos pueden ser de tipo salvaje o estar modificados por una o más sustituciones de aminoácidos; por ejemplo, modificados para parecerse más a las inmunoglobulinas humanas. Algunas formas de anticuerpos humanizados conservan todas las secuencias de CDR (por ejemplo, un anticuerpo de ratón humanizado que contiene las seis CDR del anticuerpo de ratón). Otras formas tienen una o más CDR que están alteradas con respecto al anticuerpo original.

Los expertos conocen diferentes procedimientos para humanizar anticuerpos, según lo evaluado por Almagro & Fransson, 2008, *Frontiers in Bioscience*, 13: 1619-1633. El artículo de evaluación de Almagro & Fransson se resume brevemente en la publicación US 2012/0231008 A1, que es la entrada en la etapa nacional de la solicitud internacional de patente WO 2011/063980 A1.

Como se usa en este documento, "anticuerpos humanos" incluyen anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*). Los anticuerpos humanos de la invención incluyen anticuerpos aislados de bibliotecas de inmunoglobulinas humanas o de animales transgénicos para una o más inmunoglobulinas humanas y que no expresan

inmunoglobulinas endógenas, como se describe, por ejemplo, en la patente de EE.UU. No. 5,939,598 de Kucherlapati & Jakobovits.

El término "anticuerpo monoclonal", como se usa en este documento, se refiere a una preparación de moléculas de anticuerpo de composición molecular única. Un anticuerpo monoclonal muestra una única especificidad de unión y afinidad por un epítopo particular. En una forma de realización, los anticuerpos monoclonales son producidos por un hibridoma que incluye una célula B obtenida de un animal no humano, por ejemplo, ratón, fusionado a una célula inmortalizada.

El término "anticuerpo recombinante", como se usa en este documento, incluye todos los anticuerpos que se preparan, expresan, crean o aislan por medios recombinantes, tales como (a) anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico o transcromosómico con respecto a los genes de inmunoglobulina o un hibridoma preparado a partir de los mismos, (b) anticuerpos aislados de una célula huésped transformada para expresar el anticuerpo, por ejemplo, de un transfectoma, (c) anticuerpos aislados de una biblioteca combinatoria de anticuerpos recombinantes, y (d) anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias de genes de inmunoglobulina con otras secuencias de ADN.

El término "transfectoma", como se usa en este documento, incluye células huésped eucariotas recombinantes que expresan un anticuerpo, tales como células CHO, células NS/0, células HEK293, células HEK293T, células vegetales u hongos, incluidas células de levadura.

Como se usa en este documento, un "anticuerpo heterólogo" se define en relación con un organismo transgénico que produce tal anticuerpo. Este término se refiere a un anticuerpo que tiene una secuencia de aminoácidos o una secuencia de ácido nucleico codificante, correspondiente a la encontrada en un organismo que no consiste en el organismo transgénico, y que generalmente se deriva de una especie distinta del organismo transgénico.

Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo heterohíbrido" se refiere a un anticuerpo que tiene cadenas ligeras y pesadas de diferentes orígenes de organismos. Por ejemplo, un anticuerpo que tiene una cadena pesada humana asociada con una cadena ligera murina es un anticuerpo heterohíbrido.

Los anticuerpos descritos en el presente documento se aíslan preferiblemente. Un "anticuerpo aislado", como se usa en este documento, pretende referirse a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigenicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a C5a está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos distintos de C5a). Sin embargo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a un epítopo, isoforma o variante de C5a humano puede tener reactividad cruzada con otros antígenos relacionados, por ejemplo, de otras especies (por ejemplo, homólogos de especies de C5a, como C5a de rata). Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos. En una forma de realización de la invención, una combinación de anticuerpos monoclonales "aislados" se refiere a anticuerpos que tienen diferentes especificidades y se combinan en una composición bien definida.

El término "de origen natural", como se usa en el presente documento, tal como se aplica a un objeto, se refiere al hecho de que un objeto se puede encontrar en la naturaleza. Por ejemplo, una secuencia polipeptídica o polinucleotídica que está presente en un organismo (incluidos los virus) que puede aislarse de una fuente en la naturaleza y que no ha sido modificada intencionalmente por el hombre en el laboratorio es de origen natural.

Como se usa en este documento, una "enfermedad inflamatoria cutánea, neutrofílica" se refiere a cualquier enfermedad que esté asociada con una inflamación de la piel y con un infiltrado neutrofílico en la piel (por ejemplo, en la epidermis) de un individuo afectado por dicha enfermedad. El término "enfermedad inflamatoria cutánea, neutrofílica" se refiere particularmente a hidradenitis supurativa (HS); PASH (PG, acné e hidradenitis supurativa); PAPASH (artritis piógena, acné, PG e hidradenitis supurativa).

Como se usa en este documento, la expresión "enfermedad relacionada con HS" comprende sin limitación PASH (PG, acné e hidradenitis supurativa); PAPASH (artritis piógena, acné, PG e hidradenitis supurativa).

IFX-1 (nombre alternativo: CaCP 29; InflaRx GmbH, Alemania) es un anticuerpo que se une específicamente a C5a. Las secuencias de CDR y las secuencias de FR de IFX-1 se divulan en la publicación WO 2015/140304 A1 (en la Tabla 3 en la página 31).

INab708 (InflaRx GmbH, Alemania) es otro anticuerpo que se une específicamente a C5a. Las secuencias de CDR y las secuencias de FR de INab708 también se divulan en la publicación WO 2015/140304 A1 (en la Tabla 3 en la página 31).

Como se usa en este documento, un "paciente" significa cualquier mamífero o ave que puede beneficiarse de un tratamiento con el compuesto descrito en este documento (es decir, con un inhibidor de la actividad de C5a descrita en este documento). Preferiblemente, un "paciente" se selecciona del grupo que consiste en animales de laboratorio (por ejemplo, ratón o rata), animales domésticos (incluyendo, por ejemplo, cobaya, conejo, pollo, pavo, cerdo, oveja,

cabra, camello, vaca, caballo, burro, gato o perro) o primates, incluidos chimpancés y seres humanos. Se prefiere particularmente que el "paciente" sea un ser humano.

Como se usa en el presente documento, "tratar", "tratando" o "tratamiento" de una enfermedad o trastorno significa lograr uno o más de los siguientes: (a) reducir la gravedad y/o duración del trastorno; (b) limitar o prevenir el desarrollo de síntomas característicos del o de los trastornos que se están tratando; (c) inhibir el empeoramiento de los síntomas característicos del trastorno o de los trastornos que se están tratando; (d) limitar o prevenir la recurrencia del (los) trastorno (s) en pacientes que han tenido previamente el (los) trastorno (s); y (e) limitar o prevenir la recurrencia de síntomas en pacientes que previamente eran sintomáticos del trastorno o de los trastornos.

Como se usa en este documento, "prevenir", "previendo", "prevención" o "profilaxis" de una enfermedad o trastorno significa prevenir que se produzca un trastorno en el sujeto.

Una "cantidad eficaz" es una cantidad de un agente terapéutico suficiente para lograr el propósito pretendido. La cantidad eficaz de un agente terapéutico dado variará con factores tales como la naturaleza del agente, la vía de administración, el tamaño y la especie del animal que recibirá el agente terapéutico y el propósito de la administración. La cantidad eficaz en cada caso individual puede ser determinada empíricamente por un experto en la materia de acuerdo con procedimientos establecidos en la técnica.

"Farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o listado en la Farmacopea de los Estados Unidos u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, y más particularmente en humanos.

Formas de realización de la invención

La presente invención se describirá ahora con más detalle. En los siguientes pasajes, la invención se define con más detalle. En particular, cualquier característica indicada como preferida o ventajosa puede combinarse con cualquier otra característica o características indicadas como preferidas o ventajosas.

La presente invención está dirigida a un compuesto para su uso en el tratamiento de una enfermedad cutánea neutrofílica inflamatoria en un sujeto, en donde el compuesto es un inhibidor de la actividad C5a, y la enfermedad cutánea neutrofílica inflamatoria se selecciona del grupo formado por hidradenitis supurativa (HS); PASH (PG, acné e hidradenitis supurativa); PAPASH (artritis piógena, acné, PG e hidradenitis supurativa); el inhibidor de la actividad de C5a es el anticuerpo IFX-1 o su fragmento de unión al antígeno que comprende una cadena pesada variable que consta en el siguiente orden de las secuencias de aminoácidos de FR1 de SEQ ID NO: 18, CDR1 de SEQ ID NO: 14, FR2 de SEQ ID NO: 19, CDR2 de SEQ ID NO: 10, FR3 de SEQ ID NO: 20, CDR3 de SEQ ID NO: 6 y FR4 de SEQ ID NO: 21 y una cadena ligera variable que consta en el siguiente orden de las secuencias de aminoácidos de FR1 de SEQ ID NO: 22, CDR1 de SEQ ID NO: 16, FR2 de SEQ ID NO: 23, CDR2 de SEQ ID NO: 12, FR3 de SEQ ID NO: 24, CDR3 de SEQ ID NO: 8 y FR4 de SEQ ID NO: 25.

El inhibidor de la actividad de C5a se une específicamente a un epítopo conformacional formado por las secuencias de aminoácidos NDETCEQRA (SEQ ID NO: 2) y SHKDMQL (SEQ ID NO: 3) de C5a humano y se une a al menos un aminoácido dentro de la secuencia de aminoácido DETCEQR (SEQ ID NO: 4) y a al menos un aminoácido dentro de la secuencia de aminoácidos KDM.

Las secuencias FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4 que definen los dominios VH de IFX-1 e INab708 se muestran más adelante en la Tabla 1.

Las secuencias FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4 que definen los dominios VL de IFX-1 e INab708 se muestran a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1: Secuencias CDR y FR de los anticuerpos IFX-1 e INab708 (modo de clasificación Chothia)

IFX-1:	INab708:
Cadena pesada :	Cadena pesada :
FR1: QVQLQQSGPQLVRPGTSVKIS (= SEQ ID NO: 18)	FR1: VQLLESGAELMKPGASVKIS (SEQ ID NO: 26)
CDR1 : CKASGYSFTTFWMD (= SEQ ID NO: 14)	CDR1: CKATGNTFSGYWTE (= SEQ ID NO: 15)
FR2: WVKQRPGQGLEWIGR (SEQ ID NO: 19)	FR2: WVKQRPGHGLEWIGE (SEQ ID NO: 27)
CDR2: IDPSDSESRLDQ (= SEQ ID NO: 10)	CDR2: ILPGSGSTNYNE (= SEQ ID NO: 11)
FR3:	FR3:
RFKD RATLTV DKSS STVY MQLSS PTSE DSAV YY (SEQ ID NO: 20)	KFKKGATLTADTSS NTAY MQLSSL TSE DSAV YY (SEQ ID NO: 28)
CDR3: CARGNDGY YGFAY (= SEQ ID NO: 6)	CDR3: CTRRG LYDG SSYFAY (= SEQ ID NO: 7)
FR4: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 21)	FR4: WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 29)
Cadena ligera:	Cadena ligera:
FR1: DIVLTQSPASLA VSLGQRATIS (SEQ ID NO: 22)	FR1: DIVLTQSPASLA VSLGQRATIS (SEQ ID NO: 30)
CDR1: CKASQSV DYGDSY MK (= SEQ ID NO: 16)	CDR1: CKASQSV DYGDSY MN (= SEQ ID NO: 17)
FR2: WYQQKPGQPPKLL (SEQ ID NO: 23)	FR2: WYQQKPGQPPKLL (SEQ ID NO: 31)
CDR2: TYAASN L (= SEQ ID NO: 12)	CDR2: TYAASN L (= SEQ ID NO: 13)
FR3:	FR3:
QSGIPARFSGSGSGT DFTLN IHPVEEE AAT YY (SEQ ID NO: 24)	GSGIPARFSGSGSGT DFTLN IHPVEEE AAT YY (SEQ ID NO: 32)
CDR3: CQQSNEDPYT (= SEQ ID NO: 8)	CDR3: CQQNNEDPLT (= SEQ ID NO: 9)
FR4: FGGGT KLEIK (SEQ ID NO: 25)	FR4: FGAGTLLELK (SEQ ID NO: 33)

En algunas formas de realización de la presente invención, el compuesto se administrará en una dosis de 800 mg una vez por semana o en una dosis de 800 mg dos veces por semana. En otras formas de realización,

- 5 – el inhibidor de la actividad de C5a es un compuesto que se une específicamente a C5a seleccionado del grupo que consiste en IFX-1 y un fragmento de unión a antígeno del mismo; del modo más preferible, el inhibidor de la actividad de C5a es IFX-1); y
 - la enfermedad cutánea neutrofílica inflamatoria es la hidradenitis supurativa (HS); y
 - el compuesto debe administrarse en una dosis de 800 mg una vez por semana o en una dosis de 800 mg dos veces por semana.
- 10 En otras formas de realización, el inhibidor de la actividad de C5a debe administrarse por vía intravenosa. En formas de realización adicionales, el inhibidor de la actividad de C5a debe administrarse dos veces por semana a una dosis de 800 mg en la primera semana de tratamiento y una vez por semana a una dosis de 800 mg en la segunda y siguientes semanas de tratamiento. En formas de realización adicionales, la duración total del tratamiento está entre 5 y 12 semanas (por ejemplo, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas o 12 semanas).

Composiciones farmacéuticas y modos de administración.

- 20 En la práctica de la presente invención, un compuesto que es IFX-1 o una composición farmacéutica que comprende el compuesto puede administrarse a un paciente por cualquier vía establecida en la técnica que proporcione un nivel suficiente del compuesto en el paciente. Puede administrarse de forma sistémica o local. Tal administración puede ser por vía parenteral, transmucosa, por ejemplo, por vía oral, nasal, rectal, intravaginal, sublingual, submucosa, transdérmica o por inhalación. Preferiblemente, la administración es parenteral, por ejemplo, mediante inyección intravenosa o intraperitoneal y también incluye, pero no se limita a, administración intraarterial, intramuscular, intradérmica y subcutánea. Si el compuesto descrito en el presente documento (por ejemplo, un inhibidor de la actividad de C5a descrito en el presente documento) o una composición farmacéutica que comprende el compuesto se administra localmente, se puede inyectar directamente en el órgano o tejido a tratar.

- 25 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral se pueden proporcionar como cápsulas o comprimidos; como polvos o gránulos; como soluciones, jarabes o suspensiones (en líquidos acuosos o no acuosos); como espumas o batidos comestibles; o como emulsiones. Los comprimidos o cápsulas de gelatina dura pueden comprender lactosa, almidón o sus derivados, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa, carbonato de magnesio, ácido esteárico o sales del mismo. Las cápsulas de gelatina blanda pueden comprender aceites vegetales, ceras, grasas, polioles semisólidos o líquidos, etc. Las soluciones y jarabes pueden comprender agua, polioles y azúcares.

Un agente activo destinado a la administración oral puede recubrirse o mezclarse con un material que retrasa la desintegración y/o absorción del agente activo en el tracto gastrointestinal (por ejemplo, puede usarse monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo). Por tanto, la liberación sostenida de un agente activo puede lograrse durante muchas horas y, si es necesario, el agente activo puede protegerse para que no se degrade en el estómago. Se pueden formular composiciones farmacéuticas para administración oral para facilitar la liberación de un agente activo en una ubicación gastrointestinal particular debido a condiciones específicas enzimáticas o de pH.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica se pueden proporcionar como parches discretos destinados a permanecer en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un período de tiempo prolongado. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica se pueden proporcionar como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, esprais, aerosoles o aceites. Para la administración tópica en la piel, la boca, los ojos u otros tejidos externos, se usa preferiblemente una pomada o crema tópica. Cuando se formula en una pomada, el ingrediente activo puede emplearse con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Alternativamente, el ingrediente activo se puede formular en una crema con una base de aceite en agua o una base de agua en aceite. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica en el ojo incluyen gotas para los ojos. En estas composiciones, el ingrediente activo se puede disolver o suspender en un vehículo adecuado, por ejemplo, en un disolvente acuoso. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica en la boca incluyen píldoras, pastillas y enjuagues bucales.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración nasal pueden comprender vehículos sólidos tales como polvos (preferiblemente que tienen un tamaño de partícula en el intervalo de 20 a 500 micrómetros). Los polvos se pueden administrar de la manera en que se toma el rapé, es decir, mediante inhalación rápida a través de la nariz desde un recipiente de polvo que se mantiene cerca de la nariz. Alternativamente, las composiciones adoptadas para la administración nasal pueden comprender vehículos líquidos, por ejemplo, esprais nasales o gotas nasales. Estas composiciones pueden comprender soluciones acuosas o aceitosas del ingrediente activo. Las composiciones para administración por inhalación se pueden suministrar en dispositivos especialmente adaptados que incluyen, pero no se limitan a, aerosoles presurizados, nebulizadores o insufladores, que pueden construirse para proporcionar dosis predeterminadas del ingrediente activo. Las composiciones farmacéuticas también se pueden administrar a través de la cavidad nasal a los pulmones.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración rectal se pueden proporcionar como supositorios o enemas. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración vaginal se pueden proporcionar en forma de pesarios, reguladores de pH, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en esprai.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones o suspensiones inyectables estériles acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, reguladores de pH, bacteriostáticos y solutos que hacen que las composiciones sean sustancialmente isotónicas con la sangre de un receptor previsto. Otros componentes que pueden estar presentes en tales composiciones incluyen agua, alcoholes, polioles, glicerina y aceites vegetales, por ejemplo. Las composiciones adaptadas para la administración parenteral se pueden presentar en envases de dosis unitaria o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en condición secada por congelamiento (liofilizada) que requiere solo la adición de un vehículo líquido estéril, por ejemplo, solución salina estéril para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. A partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles pueden prepararse soluciones y suspensiones para inyección extemporánea.

En una forma de realización preferida, un compuesto que es IFX-1 se formula de acuerdo con procedimientos de rutina como una composición farmacéutica adaptada para la administración intravenosa a seres humanos. Normalmente, las composiciones para administración intravenosa son soluciones en regulador de pH acuoso isotónico estéril. Cuando sea necesario, la composición también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local como lidocaína para aliviar el dolor en el lugar de la inyección. Generalmente, los ingredientes se suministran por separado o mezclados juntos en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o un concentrado libre de agua en un recipiente herméticamente cerrado como una ampolla o bolsita que indica la cantidad de agente activo. Cuando la composición se va a administrar mediante infusión, se puede expedir con una botella de infusión que contenga agua o solución salina estériles de calidad farmacéutica. Cuando la composición se administra mediante inyección, se puede proporcionar una ampolla de solución salina estéril para que los ingredientes se puedan mezclar antes de la administración.

En otra forma de realización, por ejemplo, un compuesto que es IFX-1 o una composición farmacéutica que comprende el compuesto se puede administrar en un sistema de liberación controlada. Por ejemplo, el compuesto se puede administrar usando infusión intravenosa, una bomba osmótica implantable, un parche transdérmico, liposomas u otros modos de administración. En una forma de realización, se puede utilizar una bomba (véase Sefton (1987) CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201; Buchwald et al. (1980) Surgery 88: 507; Saudek et al. (1989) N. Eng. J. Med. 321: 574). En otra forma de realización, el compuesto puede administrarse en una vesícula, en particular un liposoma (véase Langer (1990) Science 249: 1527-1533; Treat et al. (1989) en Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez- Berestein y Fidler (eds.), Liss, NY, 353-365; WO 91/04014; US 4.704.355). En otra forma de realización, se pueden usar materiales poliméricos (ver Medical Applications of Controlled Release (1974) Langer y Wise (eds.), CRC Press: Boca Raton, F la.; Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, (1984) Smolen and Ball (eds.), Wiley: N.Y.; Ranger and Peppas (1953) J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:

61; véase también Levy et al. (1985) Science 228:190; During et al. (1989) Ann. Neurol. 25: 351; Howard et al. (1989) J. Neurosurg. 71:105).

En otra forma de realización más, se puede colocar un sistema de liberación controlada en las proximidades de la diana terapéutica, es decir, las células diana, tejido u órgano, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica (ver, por ejemplo, Goodson (1984) 115-138 in Medical Applications of Controlled Release, vol. 2). Otros sistemas de liberación controlada se analizan en la reseña de Langer (1990, Science 249: 1527-1533).

En una forma de realización específica, puede ser deseable administrar un compuesto que sea IFX-1 o una composición farmacéutica que comprenda el compuesto localmente en el área que necesita tratamiento. Esto se puede lograr, por ejemplo, y no a modo de limitación, mediante infusión local durante la cirugía, aplicación tópica, por ejemplo, junto con un apósito para heridas después de la cirugía, por inyección, por medio de un catéter, por medio de un suppositorio, o por medio de un implante y dicho implante es de un material poroso, no poroso o gelatinoso, incluidas membranas, tales como membranas de silastic, o fibras.

La selección de la dosis eficaz preferida la determinará un experto en la técnica basándose en la consideración de diversos factores que serán conocidos por un experto en la técnica. Dichos factores incluyen la forma particular de la composición farmacéutica y sus parámetros farmacocinéticos tales como biodisponibilidad, metabolismo, semivida, etc., que se habrán establecido durante los procedimientos de desarrollo habituales empleados típicamente para obtener la aprobación regulatoria de un compuesto farmacéutico. Otros factores al considerar la dosis incluyen la afección o enfermedad que se debe prevenir o tratar o el beneficio que se logra en un individuo normal, la masa corporal del paciente, la vía de administración, si la administración es aguda o crónica, medicamentos concomitantes, y otros factores bien conocidos por afectar la eficacia de los agentes farmacéuticos administrados. Por tanto, la dosis precisa debe decidirse de acuerdo con el juicio del médico y las circunstancias de cada paciente, por ejemplo, dependiendo de la condición y el estado inmunitario del paciente individual, de acuerdo con las técnicas clínicas estándar.

Ejemplos

25 Los siguientes ejemplos se proporcionan para una ilustración adicional de la invención. Sin embargo, la invención no se limita a los mismos, y los siguientes Ejemplos simplemente muestran la practicabilidad de la invención en base a la descripción anterior.

1. Procedimientos

1.1 Preparación de solución madre de zimosán A y plasma activado

30 Se disolvió Zymosan A a 2 mg/ml en 50 ml de solución salina estéril y se hirvió durante 1 h a 100°C. Después de la centrifugación, se descartó el sobrenadante y la pella se resuspendió en 50 ml de solución salina estéril. Después de una segunda etapa de centrifugación, se resuspendió la pella en 5 ml de solución salina estéril para obtener una solución madre de 20 mg/ml. La solución madre se dividió en alícuotas y se almacenó a -20°C hasta su uso. Para activar el plasma, se mezclaron la solución madre de zymosan A y 100 µl de plasma y se incubaron a 37°C durante 35 30 min. Después de la incubación, los tubos se centrifugaron y el sobrenadante se dividió en alícuotas y se almacenó a -20°C hasta su uso.

1.2 Ensayo de CD11b usando rhC5a o ZAP como estimulantes

40 Se estimuló sangre humana entera con rhC5a o ZAP. Para probar la actividad de bloqueo de IFX-1 y la IgG4 de control sobre rhC5a, los anticuerpos se diluyeron hasta las relaciones Ab/Ag finales de 1:1 y 0.5:1. Para probar la actividad de bloqueo de IFX-1 sobre eC5a, se diluyó IFX-1 para alcanzar las relaciones molares Ab/Ag finales de aproximadamente 4:1/3: 1/2:1/1: 1/0.5:1. La sangre solo con regulador de pH sirvió como control de no estimulación para evaluar la expresión de CD11b basal. Se usó anticuerpo solo para determinar los efectos del anticuerpo en sangre humana no estimulada. La mezcla completa (Ab/Ag/sangre) se incubó a 37°C durante 20 min para estimular la regulación positiva de CD11b inducida por C5a, y se añadieron CD11b anti-ratón: FITC y las muestras se incubaron durante 30 min en hielo para minimizar tinción de fondo. Los granulocitos se regularon y mediante un citómetro de flujo se examinó la intensidad de fluorescencia media (MFI) de los granulocitos marcados con FITC (que expresan CD11b).

1.3 Ensayo de CD11b utilizando rhC5a o zymosan A en la sangre entera

50 La sangre humana se estimuló con rhC5a o zymosan A, y la mezcla completa (Ab/Ag/sangre) se incubó a 37°C durante 20 min para estimular la regulación positiva de CD11b inducida por C5a. Después de la incubación, se añadieron 2 µl de CD11b anti-ratón: FITC o control de isotipo y las muestras se incubaron durante 30 min en hielo para minimizar la tinción de fondo. Después de la lisis, las células se analizaron usando el citómetro de flujo. En el FSC/SSC, se regularon los granulocitos y se examinó la intensidad de fluorescencia media (MFI) de los granulocitos marcados con FITC (que expresan CD11b) para todo el conjunto de muestras.

1.4 ELISA de citocina IL-8

Se realizó ELISA de IL-8 humana como se recomienda en el manual de instrucciones en la sección "Procedimiento de ensayo" (eBioscience Inc., San Diego, CA). Brevemente, el recubrimiento se realizó durante la noche a 4°C usando 100 µl de anticuerpo de captura 1x. Las placas se bloquearon usando 200 µl de diluyentes de ensayo 1x a TA durante 1 h. Las soluciones madre estándar se diluyeron con diluyentes de ensayo 1x hasta la concentración deseada, seguido de 6 diluciones en serie 1:2. Los sobrenadantes de la muestra se diluyeron según se requería en diluyentes de ensayo 1x. De acuerdo con el "Procedimiento de ensayo", se añadieron 100 µl de diluciones estándar y diluciones de muestra a la placa recubierta y se incubaron a TA durante 1 h, seguido de la incubación con 100 µl de anticuerpo de detección 1x (TA, 1 h) y 100 µl 1x avidina-HRP (RT, 30 min). El desarrollo del color se realizó con 100 µl de solución de sustrato TMB a temperatura ambiente durante 10 minutos en la oscuridad y se detuvo con 100 µl de solución de parada. La absorbancia se leyó en 30 minutos usando el lector de placas a 450 nm. Se restó el valor estándar cero (blanco) de todos los estándares y muestras. La concentración de citocinas de las muestras se calculó usando una curva estándar log (x)/log (y) de las muestras estándar incluidas.

1.5 ELISA de C5a

El anticuerpo de captura, un anticuerpo monoclonal de C5a anti-humano purificado (InflaRx GmbH, Jena, Alemania), se revistió durante la noche con una concentración final de 0.5 µg/ml en la placa de ELISA. Después del bloqueo, las muestras de calibración (C5a humana recombinante, Sigma, Taufkirchen, Alemania) y las muestras diluidas en diluyente de ensayo (1x PBS, Tween20 al 0.05%, FBS inactivado por calor al 2%) se incubaron durante 90 minutos a temperatura ambiente. Se aplicó el clon 561 de anticuerpo C5/C5a anti-humano de ratón (Hycult Biotech, Uden, Países Bajos) diluido a 2 µg/ml en diluyente de ensayo como anticuerpo de detección principal durante una etapa de incubación de 60 minutos a temperatura ambiente, seguido de incubación de 30 minutos con un anticuerpo secundario marcado con peroxidasa de rábano picante (anticuerpo políclonal de cabra anti-ratón IgG2a, SouthernBiotech, Birmingham, EE.UU.) diluido a 0.05 µg/ml en diluyente de ensayo. El desarrollo del color se realizó con una solución de sustrato de tetrametilbencidina (TMB, Biozol, Eching, Alemania) y se detuvo con ácido sulfúrico de 3.7 N. La DO se leyó a una absorbancia de 450 nm mediante el lector Tecan Infinite® 200 y Tecan Magellan™ (Tecan Group, Maennedorf, Suiza). El ELISA de C5a desarrollado internamente se validó de acuerdo con las directrices de la EMA sobre validación de procedimientos bioanalíticos.

La precisión intraensayo e interensayo probada con cinco concentraciones diferentes mostró un coeficiente de varianza (CV) de 0.65% a 4.96% y 1.50% a 4.88% para seis y 18 repeticiones, respectivamente. El análisis de recuperación de C5a humano recombinante enriquecido en regulador de pH dio como resultado recuperaciones de $86.98 \pm 1.20\%$ (media \pm SD) en el límite inferior de cuantificación y $91.50 \pm 3.29\%$ en el límite superior de cuantificación. No se detectó reactividad cruzada para C3, C3a y C4 ni una reactividad cruzada de < 0.01% para C5b-6. Los anticuerpos IgG4 humanos no interfirieron con el ensayo. Los niveles de C5a de 20 voluntarios humanos en plasma de citrato dieron como resultado $17.08 \text{ ng/ml} \pm 6.96 \text{ ng/ml}$ con un intervalo de 7.52 ng/ml a 30.17 ng/ml . No se identificaron diferencias para las mediciones de C5a y C5a-desArg utilizando este ELISA.

1.6 Mediciones de los productos de activación del complemento

Las concentraciones de los productos de activación del complemento C3a, C5a y el complejo de ataque a la membrana C5b-9 se midieron mediante el procedimiento ELISA. ELISA (BD OptEIA™ Human C3a ELISA Kit, BD Bioscience, Alemania) de C3a se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La concentración de C5b-9 se determinó utilizando el ELISA de C5b-9 validado por InflaRx basado en el conjunto ELISA BD OptEIA™ Human C5b-9 (BD Bioscience). La concentración de C5a se midió usando un ELISA de C5a establecido y validado por InflaRx descrito anteriormente.

1.7 Análisis estadístico

Todos los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar. Las diferencias estadísticas entre los grupos, después de la corrección de la línea de base, se calcularon mediante ANOVA de una vía, incluida la prueba de comparación múltiple de Tukey o mediante la prueba t de Student para dos grupos. El valor de p de 0.05 se utilizó en el cálculo para determinar si había diferencias significativas entre dos grupos. La creación de gráficos y el análisis estadístico se realizaron con GraphPad PRISM® V6.05 (CA, EE. UU.).

2. Datos preclínicos relevantes

2.1 Activación de neutrófilos por C5a y efecto bloqueante de IFX-1

Como la regulación positiva de CD11b es un sello distintivo y un marcador sensible para la activación de neutrófilos, se emplearon niveles de CD11b en neutrófilos para evaluar la activación de neutrófilos. El modelo de sangre entera humana se utilizó en este estudio para evaluar la actividad de bloqueo de IFX-1 frente a C5a humana recombinante. Se incubó sangre humana entera con regulador de pH, anticuerpo solo, rhC5a solo o combinaciones de diferentes concentraciones de anticuerpo y rhC5a. Después de la incubación, las células se tiñeron con CD11b anti-ratón: FITC y se analizó CD11b MFI mediante citometría de flujo para determinar los niveles de activación de neutrófilos en sangre. Como se muestra en la Figura 1, la C5a humana recombinante estimula fuertemente la regulación positiva de CD11b en los neutrófilos humanos. Este efecto puede bloquearse completamente en presencia del anticuerpo C5a anti-

humano IFX-1. Esta inhibición es muy específica y el anticuerpo IgG4 humano inespecífico no mostró ninguna actividad bloqueante.

Como fuente de C5a endógeno (eC5a), se usó plasma activado por zimosán (ZAP) de diferentes donantes para estimular los neutrófilos sanguíneos. La cantidad de producción de eC5a en la sangre después de la estimulación con ZAP se midió usando un ELISA de C5a comercial. Los datos presentados aquí (Figura 2) señalan que la estimulación de sangre entera con eC5a en ZAP indujo una regulación positiva de CD11b comparable a la regulación positiva de CD11b inducida por rhC5a. La presencia de IFX-1 disminuyó significativamente la expresión de CD11b en neutrófilos humanos, incluso en una relación molar Ab: Ag de 0.5:1. La actividad de bloqueo general de IFX-1 a la regulación positiva de CD11b inducida por ZAP osciló entre el 100% y el 82% dependiendo de la relación Ab:Ag. A pesar de que el alto nivel de eC3a y otros productos de activación del complemento en ZAP están presentes en ZAP, IFX-1 pudo bloquear la regulación positiva de CD11b hasta en un 100%. Por lo tanto, se puede concluir que eC5a es el único impulsor de la activación de neutrófilos tras la estimulación de ZAP, e IFX-1 puede bloquearlo por completo.

2.2 El bloqueo de C5a atenúa las respuestas inflamatorias inducidas por zimosán en la sangre entera humana

El zimosan A, como componente activo de la pared del hongo, puede inducir fuertes respuestas inflamatorias en la sangre entera, como se caracterizan por la activación de neutrófilos y niveles aumentados de citocinas y quimiocinas. En este estudio, se enriqueció sangre entera humana con zimosán A en presencia o ausencia de IFX-1, y se midió el CD11b en los neutrófilos de la sangre mediante análisis de citometría de flujo. Como se muestra en la Figura 3, el CD11b en los neutrófilos de la sangre se reguló de manera positiva fuertemente cuando se añadió zymosan en la sangre humana entera. El aumento de la expresión de CD11b por estimulación con zimosán puede suprimirse en un 79% - 93% dependiendo de la concentración de IFX-1 añadida. Como control positivo, la regulación positiva de CD11b estimulada por rhC5a fue bloqueada al 100% por IFX-1. Por lo tanto, es afirmativo que la regulación positiva de CD11b en los neutrófilos sanguíneos tras la estimulación con zimosán A está causada principalmente por eC5a. Además, se puede concluir que eC5a, una vez generado en la sangre total por zymosan A, se une primero a IFX-1, bloqueando así su acceso a sus receptores naturales.

En la misma configuración experimental se midieron los niveles de IL-8 y se usaron para evaluar también la respuesta inflamatoria. Las concentraciones de IL-8 después de diversas dosis de estimulación con zimosán A variaron de 458 pg/ml a 3218 pg/ml en ausencia de IFX-1. Como se muestra en la Figura 4, la presencia de IFX-1 redujo significativamente la generación de IL-8 tras la estimulación con diversas concentraciones de zimosán A y se observó una tasa de reducción de hasta 54%. Por tanto, en la situación de sangre entera de inflamación, las respuestas inflamatorias inducidas por zimosán dependen en gran medida de la presencia de C5a.

3. Datos clínicos pertinentes

3.1 Datos obtenidos de muestras clínicas

3.1.1 Activación del complemento en pacientes con HS

Se inscribieron en el estudio un total de 54 pacientes con HS y 14 voluntarios sanos. Los pacientes están bajo seguimiento en el Departamento de Inmunología de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario para pacientes ambulatorios ATTIKON, Grecia. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del hospital. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito. El diagnóstico de HS se basó en los siguientes criterios: a) inicio temprano después de la pubertad; b) presencia de nódulos subcutáneos en áreas de piel ricas en glándulas apocrinas; y c) un historial compatible de drenaje recurrente de pus de las áreas afectadas.

Se determinaron las concentraciones circulantes de los factores del complemento C3a y C5a, así como el complejo de ataque a la membrana sC5b-9, en el plasma de 54 pacientes y de 14 controles sanos, así como en el pus de siete pacientes. Como se muestra en la Figura 5, la C5a circulante fue significativamente mayor en el plasma del paciente que en el plasma de control ($P < 0.01$), y las diferencias de C3a y C5b-9 entre pacientes y controles fueron de importancia similar. Por tanto, se puede concluir que la activación sistémica del complemento ocurre en la HS. Dado el papel esencial de la activación del complemento en la inmunidad innata y adaptativa, los inventores supusieron que el direccionamiento de la activación del complemento podría ser una nueva estrategia terapéutica para el tratamiento de la HS.

Sin embargo, a partir de los resultados anteriores, no estaba claro cuál de C3a, C5a o C5-9b u otros productos de activación del complemento sería la diana más prometedora para esta nueva estrategia terapéutica y si sería suficiente dirigirse solo a uno de estos factores o si hay que dirigirse a dos o más factores implicados en la activación del complemento.

3.1.2 Bloqueo de la regulación positiva de CD11b en neutrófilos sanguíneos inducida por plasma HS

Para determinar el papel de C5a en la muestra de plasma HS sobre la activación de neutrófilos, se eligieron y evaluaron muestras de plasma HS con altos niveles de C5a empleando el modelo de sangre humana entera. Como se muestra en la Figura 6, en contraste con las muestras de plasma de control con niveles bajos de C5a (Ctrl008 y Ctrl012), las muestras de plasma HS (pat088 y pat092) con altos niveles de C5a aumentaron fuertemente la expresión de CD11b

en los neutrófilos de la sangre. Se usó C5a humano recombinante como control positivo, mientras que el plasma de voluntarios sanos se eligió como control negativo. La regulación positiva de CD11b inducida por el plasma HS puede suprimirse al 100% con IFX-1, lo que indica que C5a es el activador más importante en el plasma HS para iniciar la activación de los neutrófilos. A partir de estos nuevos resultados, los inventores concluyeron que el bloqueo de C5a en pacientes con HS es suficiente para lograr una fuerte supresión de la activación de los neutrófilos.

3.2 Datos obtenidos del ensayo clínico

3.2.1 Diseño de ensayo

Se llevó a cabo un ensayo de fase II de etiqueta abierta en 11 pacientes con hidradenitis supurativa de moderada a grave en el Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario ATTIKON, Grecia.

El objetivo principal del ensayo fue explorar la seguridad y tolerabilidad de IFX-1 administrado durante 8 semanas. Los objetivos secundarios del ensayo fueron evaluar la farmacocinética y la farmacodinámica de IFX-1, así como generar datos preliminares sobre la eficacia de IFX-1 en criterios de valoración clínicos (por ejemplo, HiSCR, DLQI, VAS para el estado de la enfermedad, VAS para el dolor, HS -PGA, puntaje de Sartorius modificado) para generar más hipótesis. Los pacientes incluidos fueron tratados con 800 mg de IFX-1 dos veces en la primera semana y una vez a la semana a partir de entonces durante el tratamiento total de 8 semanas; es decir, se administró IFX-1 en nueve dosis intravenosas de 800 mg de IFX-1 los días 1, 4, 8, 15, 22, 29, 36, 43 y 50. Todos los pacientes fueron seguidos durante 12 semanas adicionales.

Criterios de inclusión en el cribado:

1. Pacientes hombres o mujeres ≥ 18 años
2. Consentimiento informado por escrito
3. Diagnóstico de HS durante al menos 1 año
4. Lesiones de HS en al menos 2 áreas anatómicas distintas, una de las cuales es etapa Hurley II o III
5. Recuento total de AN (abcesos y nódulos) ≥3
6. Pacientes con falla primaria o secundaria del tratamiento biológico o que no son idóneos para el tratamiento con otros biológicos.

NOTA: una falla primaria se define como un tratamiento de al menos 12 semanas con un compuesto biológico sin efecto y una falla secundaria a medida que se logra una respuesta inicial después de un tratamiento de al menos 12 semanas con un compuesto biológico seguida de una recaída.

7. Falla de tratamientos antimicrobianos anteriores

30 Criterios de exclusión en el cribado:

1. Peso corporal superior a 150 kg o peso corporal inferior a 60 kg
2. Tiene un recuento de fistulas supurantes superior a 30 al inicio del estudio.
3. Tratamiento quirúrgico planificado en las próximas 24 semanas.
4. Aparición de un brote de HS que provoque tratamiento antimicrobiano intravenoso en los últimos 14 días.
5. Cualquier otra enfermedad y afección con probabilidad de interferir con la evaluación del producto del estudio, la evaluación de los resultados o la realización satisfactoria del estudio.
 - a) Infección activa
 - b) Insuficiencia cardíaca congestiva grave (es decir, clase IV de la NYHA)
 - c) Depresión
- 40 d) Historia de lupus eritematoso sistémico o artritis reumatoide
- e) Cualquier enfermedad por inmunodeficiencia.
- f) Tumor maligno sólido o hematológico activo
- g) Los pacientes no deben haber tenido ninguna otra enfermedad o afección cutánea activa (por ejemplo, infección bacteriana, micótica o viral) que pueda haber interferido con la evaluación de la HS.

6. Uno de los siguientes resultados de laboratorio anormales
- a) Recuento de leucocitos <2,500/mm³
 - b) Recuento de neutrófilos <1000/mm³
 - c) Creatinina sérica > 3 x límite superior normal (UNL)
- 5 d) Bilirrubina total > 2 x UNL
- e) Alanina-aminotransferasa (ALAT) > 2x UNL
 - f) Prueba de cribado positiva para hepatitis B, hepatitis C o VIH 1/2
7. Administración previa de cualquier compuesto biológico en los últimos 3 meses
8. Ingesta de corticosteroides definida como la ingesta diaria de prednisona o equivalente superior a 1 mg/kg durante las últimas tres semanas;
- 10 9. Ingesta de fármacos inmunosupresores en los últimos 30 días (por ejemplo, ciclosporina, tacrolimus)
10. Criterios generales de exclusión
- a) Mujeres embarazadas (en mujeres en edad fértil se debe realizar una prueba de embarazo en orina) o en período de lactancia
- 15 b) Mujeres en edad fértil (definidas como dentro de los dos años posteriores a su última menstruación) que no estén dispuestas a practicar las medidas anticonceptivas adecuadas (por ejemplo, Implanon, inyecciones, anticonceptivos orales, dispositivos intrauterinos, pareja con vasectomía, abstinencia) mientras participan en el ensayo
- c) Participación en cualquier ensayo clínico intervencionista dentro de los últimos tres meses.
 - d) Abuso de drogas intravenosas conocido
- 20 e) Empleado en el sitio del estudio, cónyuge/pareja o pariente de cualquier miembro del personal del estudio (por ejemplo, investigador, subinvestigadores o enfermera del estudio) o relación con el patrocinador
- 3.2.2 Hallazgos de ensayos clínicos
- El IFX-1 se tolera bien en pacientes con HS. No se informaron eventos adversos graves relacionados con el fármaco durante el período de tratamiento.
- 25 Un parámetro de eficacia comúnmente utilizado en la respuesta clínica de hidradenitis supurativa (HiSCR). La HiSCR se define por el estado de tres tipos de lesiones (criterios de definición): abscesos (fluctuantes, con o sin drenaje, sensibles o dolorosos), nódulos inflamatorios (lesión granulomatosa sensible, eritematosa, piógena) y fistulas drenantes (tractos sinusales, con comunicaciones a la superficie de la piel, drenando líquido purulento). La definición propuesta de respondedores al tratamiento (que logran HiSCR) es: (i) al menos una reducción del 50% en AN, (ii) sin aumento en el número de abscesos y (iii) sin aumento en el número de fistulas drenantes desde el inicio. La HiSCR se ha validado recientemente como un criterio de valoración sensible y clínicamente significativo de la manifestación inflamatoria de la HS (Kimball y otros, 2014).
- 30 35 En este estudio se investigó la respuesta HiSCR durante el período de tratamiento de 8 semanas, y respondieron 8 de 11 pacientes ya tratados hasta el día 56, lo que representa una tasa de respuesta del 72.7% y un intervalo de confianza del 43% al 91%. Para comparar estos resultados con datos históricos, se realizó una búsqueda en la bibliografía para detectar estudios clínicos controlados con placebo que usaban HiSCR como parámetro de eficacia. La siguiente Tabla 2 resume los cinco estudios que se completaron recientemente:

Tabla 2

Compuesto	N	Respondedor de placebo n (%)	Comentario
Adalimumab ¹	13	2 (15%)	Análisis post hoc del ensayo de fase II. Único subgrupo de pacientes con Hurley III
Adalimumab ¹	70	15 (21%)	Estudio 313, subgrupo de pacientes con Hurley III
Adalimumab ¹	76	13 (17%)	Estudio 810, subgrupo de pacientes con Hurley III
Anakinra ²	10	3 (30%)	Todos los pacientes. 6 de 10 pacientes tenían Hurley III
MABp1 ³	10	1 (10%)	Fallos del tratamiento anti-TNFα

¹ Informe de evaluación de Humira EMA http://www.ema.europa.eu/docs/enGB/document_library/EPAR_-_Assessment_Report_-_Variation/human/000481/WC500195564.pdf

² Estudio Anakinra (Tzanetakou y otros, 2016).

³ Comunicado de prensa XBiotech (<http://investors.xbiotech.com/phoenix.zhtml?c=253990&p=irol-newsArticle&ID=2246777>)

En total, se han tratado 179 pacientes en el grupo de placebo de estos estudios con una tasa de respuesta del 19.0% con un intervalo de confianza al 95% del 14% al 25%. Dado que ambos intervalos de confianza (por ejemplo, los pacientes con placebo históricos y los pacientes tratados con IFX-1) no se superponen, se puede concluir un efecto significativo del tratamiento con IFX-1.

La documentación fotográfica de las áreas afectadas confirmó estos hallazgos por una inflamación muy reducida en la piel, como lo demuestra la reducción visual de la hinchazón inflamatoria y el enrojecimiento después del tratamiento.

Por tanto, anti-C5a representa un poderoso agente antiinflamatorio en la situación de la enfermedad de HS. Este hallazgo clínico demuestra que el bloqueo de C5a es muy eficaz para reducir la activación de neutrófilos, por lo cual se alivia eficazmente los trastornos inflamatorios neutrófilos cutáneos.

Referencias

- Abi Abdallah DS, Egan CE, Butcher BA, Denkers EY. 2011. Mouse neutrophils are professional antigen-presenting cells programmed to instruct Th1 and Th17 T-cell differentiation. *Int Immunol* 23(5):317-326.
- Braun-Falco M, Kovnerystyy O, Lohse P, Ruzicka T. 2012. Pyoderma gangrenosum, acne, and suppurative hidradenitis (PASH)—a new autoinflammatory syndrome distinct from PAPA syndrome. *J Am Acad Dermatol* 66(3):409-415.
- Cugno M, Borghi A, Marzano AV. 2017. PAPA, PASH and PAPASH Syndromes: Pathophysiology, Presentation and Treatment. *Am J Clin Dermatol*.
- Czermak BJ, Sarma V, Pierson CL, Warner RL, Huber-Lang M, Bless NM, Schmal H, Friedl HP, Ward PA. 1999. Protective effects of C5a blockade in sepsis. *Nat Med* 5(7):788-792.
- Guo RF, Riedemann NC, Sun L, Gao H, Shi KX, Reuben JS, Sarma VJ, Zetoune FS, Ward PA. 2006. Divergent signaling pathways in phagocytic cells during sepsis. *J Immunol* 177(2): 1306-1313.
- Guo RF, Ward PA. 2005. Role of C5a in inflammatory responses. *Annu Rev Immunol* 23:821-852.
- Huber-Lang MS, Sarma JV, McGuire SR, Lu KT, Guo RF, Padgaonkar VA, Younkin EM, Laudes IJ, Riedemann NC, Younger JG y otros. 2001. Protective effects of anti-C5a peptide antibodies in experimental sepsis. *FASEB J* 15(3):568-570.
- Huber-Lang MS, Younkin EM, Sarma JV, McGuire SR, Lu KT, Guo RF, Padgaonkar VA, Curnutte JT, Erickson R, Ward PA. 2002. Complement-induced impairment of innate immunity during sepsis. *J Immunol* 169(6):3223-3231.
- Jemec GB. 2004. Medical treatment of hidradenitis suppurativa. *Expert Opin Pharmacother* 5(8): 1767-1770.
- Jemec GB, Heidenheim M, Nielsen NH. 1996. The prevalence of hidradenitis suppurativa and its potential precursor lesions. *J Am Acad Dermatol* 35(2 Pt 1): 191-194.
- Kaplan MJ. 2013. Role of neutrophils in systemic autoimmune diseases. *Arthritis Res Ther* 15(5):219.
- Kimball AB, Jemec GB, Yang M, Kageleiry A, Signorovitch JE, Okun MM, Gu Y, Wang K, Mulani P, Sundaram M. 2014. Assessing the validity, responsiveness and meaningfulness of the Hidradenitis Suppurativa Clinical Response (HiSCR) as the clinical endpoint for hidradenitis suppurativa treatment. *Br J Dermatol* 171(6):1434-1442.
- Kurzen H, Kurokawa I, Jemec GB, Emtestam L, Sellheyer K, Gimarellos-Bourboulis EJ, Nagy I, Bechara FG, Sartorius K, Lapins J y otros. 2008. What causes hidradenitis suppurativa? *Exp Dermatol* 17(5):455-456; discussion 457-472.
- Lima AL, Karl I, Giner T, Poppe H, Schmidt M, Presser D, Goebeler M, Bauer B. 2016. Keratinocytes and neutrophils are important sources of proinflammatory molecules in hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol* 174(3):514-521.
- Marzano AV. 2016. Hidradenitis suppurativa, neutrophilic dermatoses and autoinflammation: what's the link? *Br J Dermatol* 174(3):482-483.
- Marzano AV, Ceccherini I, Gattorno M, Fanoni D, Caroli F, Rusmini M, Grossi A, De Simone C, Borghi OM, Meroni PL y otros. 2014. Association of pyoderma gangrenosum, acne, and suppurative hidradenitis (PASH) shares genetic and cytokine profiles with other autoinflammatory diseases. *Medicine (Baltimore)* 93(27):e187 .
- Nemeth T, Mocsai A. 2012. The role of neutrophils in autoimmune diseases. *Immunol Lett* 143(1):9-19.

- Nemeth T, Mocsai A, Lowell CA. 2016. Neutrophils in animal models of autoimmune disease. *Semin Immunol* 28(2): 174-186.
- Pawaria S, Ramani K, Maers K, Liu Y, Kane LP, Levesque MC, Biswas PS. 2014. Complement component C5a permits the coexistence of pathogenic Th17 cells and type I IFN in lupus. *J Immunol* 193(7):3288-3295.
- 5 Prat L, Bouaziz JD, Wallach D, Vignon-Pennamen MD, Bagot M. 2014. Neutrophilic dermatoses as systemic diseases. *Clin Dermatol* 32(3):376-388.
- Revuz J. 2009. Hidradenitis suppurativa. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 23(9):985-998. Riedemann NC, Guo RF, Neff TA, Laudes IJ, Keller KA, Sarma VJ, Markiewski MM, Mastellos D, Strey CW, Pierson CL y otros. 2002. Increased C5a receptor expression in sepsis. *J Clin Invest* 110(1): 101-108.
- 10 Rittirsch D, Flierl MA, Nadeau BA, Day DE, Huber-Lang M, Mackay CR, Zetoune FS, Gerard NP, Cianflone K, Kohl J y otros. 2008. Functional roles for C5a receptors in sepsis. *Nat Med* 14(5):551-557.
- Slade DE, Powell BW, Mortimer PS. 2003. Hidradenitis suppurativa: pathogenesis and management. *Br J Plast Surg* 56(5):451-461.
- 15 Strainic MG, Shevach EM, An F, Lin F, Medof ME. 2013. Absence of signaling into CD4(+) cells via C3aR and C5aR enables autoinductive TGF-beta1 signaling and induction of Foxp3(+) regulatory T cells. *Nat Immunol* 14(2): 162-171.
- Tzanetakou V, Kanni T, Giatrakou S, Katoulis A, Papadavid E, Netea MG, Dinarello CA, van der Meer JW, Rigopoulos D, Giamarellos-Bourboulis EJ. 2016. Safety and Efficacy of Anakinra in Severe Hidradenitis Suppurativa: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Dermatol* 152(1):52-59.
- Ward PA. 2009. Functions of C5a receptors. *J Mol Med (Berl)* 87(4):375-378.
- 20 Wollina U, Koch A, Heinig B, Kittner T, Nowak A. 2013. Acne inversa (Hidradenitis suppurativa): A review with a focus on pathogenesis and treatment. *Indian Dermatol Online J* 4(1):2-11.
- Xu R, Wang R, Han G, Wang J, Chen G, Wang L, Li X, Guo R, Shen B, Li Y. 2010. Complement C5a regulates IL-17 by affecting the crosstalk between DC and gammadelta T cells in CLP-induced sepsis. *Eur J Immunol* 40(4):1079-1088.
- 25 LISTADO DE SECUENCIAS
- <110> InflaRx GmbH
- <120> TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFLAMATORIAS CON INHIBIDORES DE ACTIVIDAD DE C5A
- 30 <130> 680-11 PCT
 <150> EP 17164573.2
 <151> 2017-04-03
 <150> EP 17177657.8
 <151> 2017-06-23
- 35 <150> EP 17189938.8
 <151> 2017-09-07
 <160> 34
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
- 40 <211> 74
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1

ES 2 893 769 T3

Thr Leu Gln Lys Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala Lys Tyr Lys His Ser
1 5 10 15

Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys Val Asn Asn Asp Glu
20 25 30

Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Leu Gly Pro Arg Cys Ile
35 40 45

Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser Gln Leu Arg Ala Asn
50 55 60

Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg
65 70

<210> 2

<211> 9

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Asn Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala
1 5

10 <210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Ser His Lys Asp Met Gln Leu
1 5

15 <210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20 <400> 4

Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg
1 5

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

25 <213> Homo sapiens

<400> 5

His Lys Asp Met Gln
1 5

<210> 6

<211> 13

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> IFX-1 CDR3 cadena pesada

<400> 6

Cys Ala Arg Gly Asn Asp Gly Tyr Tyr Gly Phe Ala Tyr
1 5 10

35 <210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> INab708 CDR3 cadena pesada
<400> 7

Cys	Thr	Arg	Arg	Gly	Leu	Tyr	Asp	Gly	Ser	Ser	Tyr	Phe	Ala	Tyr
1				5					10					15

5 <210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> IFX-1 CDR3 cadena ligera
10 <400> 8

Cys	Gln	Gln	Ser	Asn	Glu	Asp	Pro	Tyr	Thr
1				5					10

15 <210> 9
<211> 10
<212> PRT
15 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> INab708 CDR3 cadena ligera
<400> 9

Cys	Gln	Gln	Asn	Asn	Glu	Asp	Pro	Leu	Thr
1				5					10

20 <210> 10
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
25 <223> IFX-1 CDR2 cadena pesada
<400> 10

Ile	Asp	Pro	Ser	Asp	Ser	Glu	Ser	Arg	Leu	Asp	Gln
1				5					10		

30 <210> 11
<211> 12
30 <212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> INab708 CDR2 cadena pesada
<400> 11

Ile	Leu	Pro	Gly	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Glu
1				5					10		

35 <210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
40 <220>
<223> IFX-1 CDR2 cadena ligera
<400> 12

Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Asn	Leu
1				5		

45 <210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
50 <223> INab708 CDR2 cadena ligera
<400> 13

Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Asn	Leu
1				5		

55 <210> 14
<211> 14
55 <212> PRT

ES 2 893 769 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> IFX-1 CDR1 cadena pesada
 <400> 14

Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Thr	Phe	Trp	Met	Asp
1				5					10				

5 <210> 15
 <211> 14
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> INab708 CDR1 cadena pesada
 <400> 15

Cys	Lys	Ala	Thr	Gly	Asn	Thr	Phe	Ser	Gly	Tyr	Trp	Ile	Glu
1				5					10				

15 <210> 16
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> IFX-1 CDR1 cadena ligera
 <400> 16

Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Asp	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ser	Tyr	Met	Lys
1				5					10				15		

25 <210> 17
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> INab708 CDR1 cadena ligera
 <400> 17

Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Asp	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ser	Tyr	Met	Asn
1				5					10				15		

35 <210> 18
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> IFX-1 FR1 cadena pesada
 <400> 18

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Gln	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Thr
1				5					10				15		

Ser Val Lys Ile Ser
20

45 <210> 19
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> IFX-1 FR2 cadena pesada
 <400> 19

Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Arg
1				5					10			15		

50 <210> 20

<211> 33
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>

5 <223> IFX-1 FR3 cadena pesada
<400> 20

Arg	Phe	Lys	Asp	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr
1				5					10						15

Val	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Pro	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr
			20					25						30	

Tyr

<210> 21

10 <211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> IFX-1 FR4 cadena pesada

<400> 21

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5				10		

<210> 22

<211> 22

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> IFX-1 FR1 cadena ligera

<400> 22

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

Gln	Arg	Ala	Thr	Ile	Ser
			20		

25

<210> 23

<211> 13

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> IFX-1 FR2 cadena ligera

<400> 23

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu
1				5					10			

35

<210> 24

<211> 33

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> IFX-1 FR3 cadena ligera

<400> 24

Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 1 5 10 15

Phe Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr
 20 25 30

Tyr

<210> 25

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> IFX-1 FR4 cadena ligera

<400> 25

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 10 5 10

<210> 26

<211> 20

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> INab708 FR1 cadena pesada

<400> 26

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

Val Lys Ile Ser
 20 20

20 <210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> INab708 FR2 cadena pesada

<400> 27

Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu
 1 5 10 15

30 <210> 28

<211> 33

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> INab708 FR3 cadena pesada

<400> 28

Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr
 1 5 10 15

Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr
 20 25 30

Tyr

40 <210> 29

<211> 11

ES 2 893 769 T3

5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> INab708 FR4 cadena pesada
<400> 29

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
1 5 10

10 <210> 30
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> INab708 FR1 cadena ligera
<400> 30

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

15 Gln Arg Ala Thr Ile Ser
20

20 <210> 31
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> INab708 FR2 cadena ligera
<400> 31

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu
1 5 10

25 <210> 32
<211> 33
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> INab708 FR3 cadena ligera
<400> 32

Gly Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
1 5 10 15

30 Phe Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Val Ala Ala Thr Tyr
20 25 30

Tyr

35 <210> 33
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> INab708 FR4 cadena ligera
<400> 33

Phe Gly Ala Gly Thr Leu Leu Glu Leu Lys
1 5 10

45 <210> 34
<211> 40
<212> RNA
<213> Secuencia artificial

<220>
5 <223> NOX-D21 de L-ARN pegilado mezclado/ADN- aptámero
<220>
10 <221> característica_misc
<222> (1)..(1)
<223> sustituido por 40 kDaPEG-aminohexilo-
<220>
<221> característica_misc
<222> (7)..(7)
<223> desoxi uridina
<220>
15 <221> característica_misc
<222> (28)..(28)
<223> desoxi uridina
<220>
<221> característica_misc
<222> (38)..(38)
<223> desoxi citidina
<400> 34
20 gcgauguggu ggugaagggu uguuggugu cgacgcacgc 40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para uso en el tratamiento de una enfermedad cutánea, neutrofílica, inflamatoria en un sujeto, en donde el compuesto es un inhibidor de la actividad de C5a, y en donde la enfermedad cutánea, neutrofílica, inflamatoria se selecciona del grupo que consiste en hidradenitis supurativa (HS); síndromes autoinflamatorios PASH (pioderma gangrenoso (PG), acné e hidradenitis supurativa) y PAPASH (artritis piógena, acné, PG e hidradenitis supurativa), en donde el inhibidor de la actividad de C5a es el anticuerpo IFX-1 o su fragmento de unión a antígeno, que comprende una cadena pesada variable que consiste en el siguiente orden de las secuencias de aminoácidos de FR1 de SEQ ID NO: 18, CDR1 de SEQ ID NO: 14, FR2 de SEQ ID NO: 19, CDR2 de SEQ ID NO: 10, FR3 de SEQ ID NO: 20, CDR3 de SEQ ID NO: 6 y FR4 de SEQ ID NO: 21 y una cadena ligera variable que consiste en el siguiente orden de las secuencias de aminoácidos de FR1 de SEQ ID NO: 22, CDR1 de SEQ ID NO: 16, FR2 de SEQ ID NO: 23, CDR2 de SEQ ID NO: 12, FR3 de SEQ ID NO: 24, CDR3 de SEQ ID NO: 8 y FR4 de SEQ ID NO: 25.
- 5
2. El compuesto para uso de la reivindicación 1, en el que el compuesto se ha de administrar a una dosis de 800 mg una vez por semana o en una dosis de 800 mg dos veces por semana.
- 10

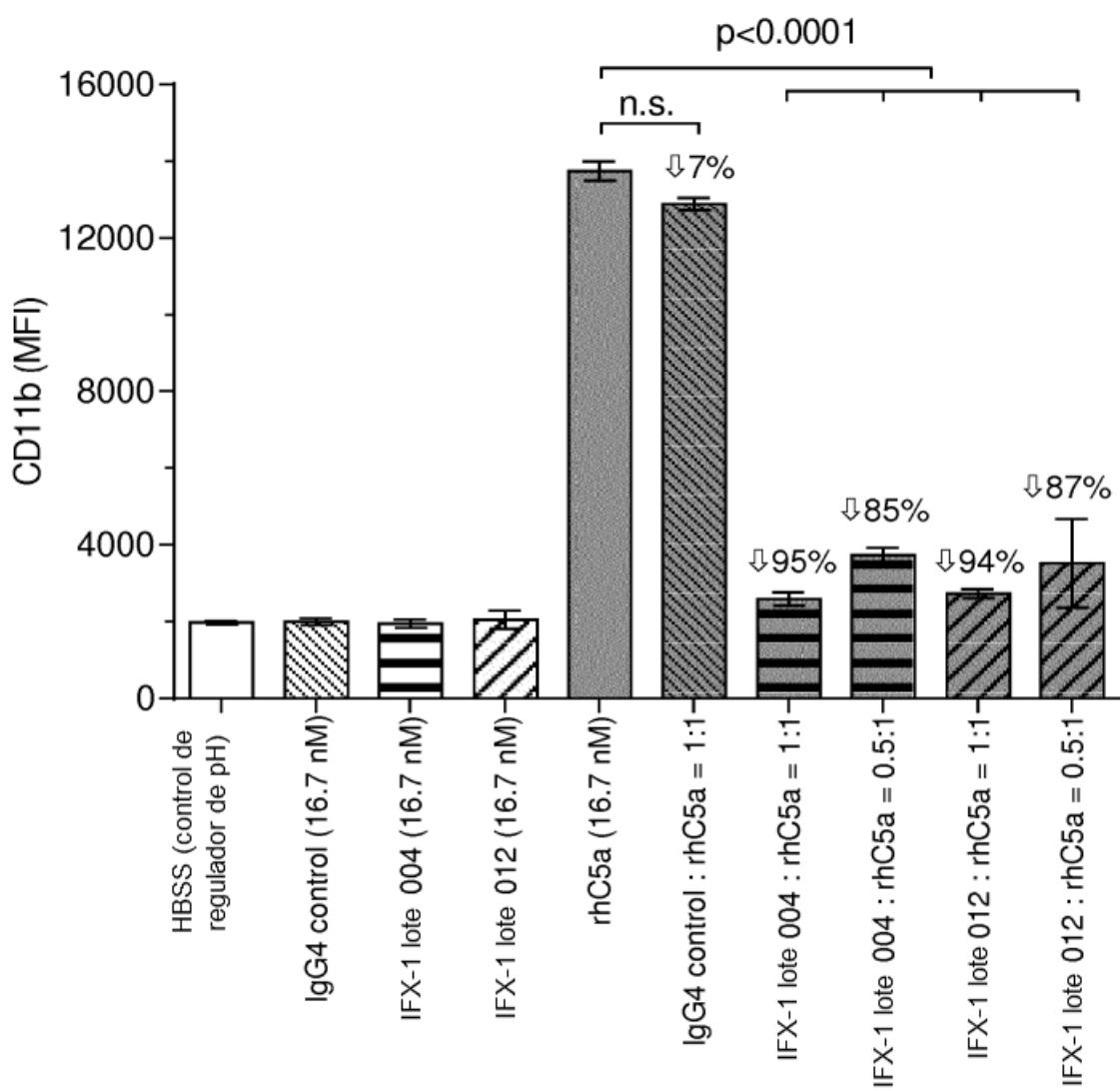
Fig. 1

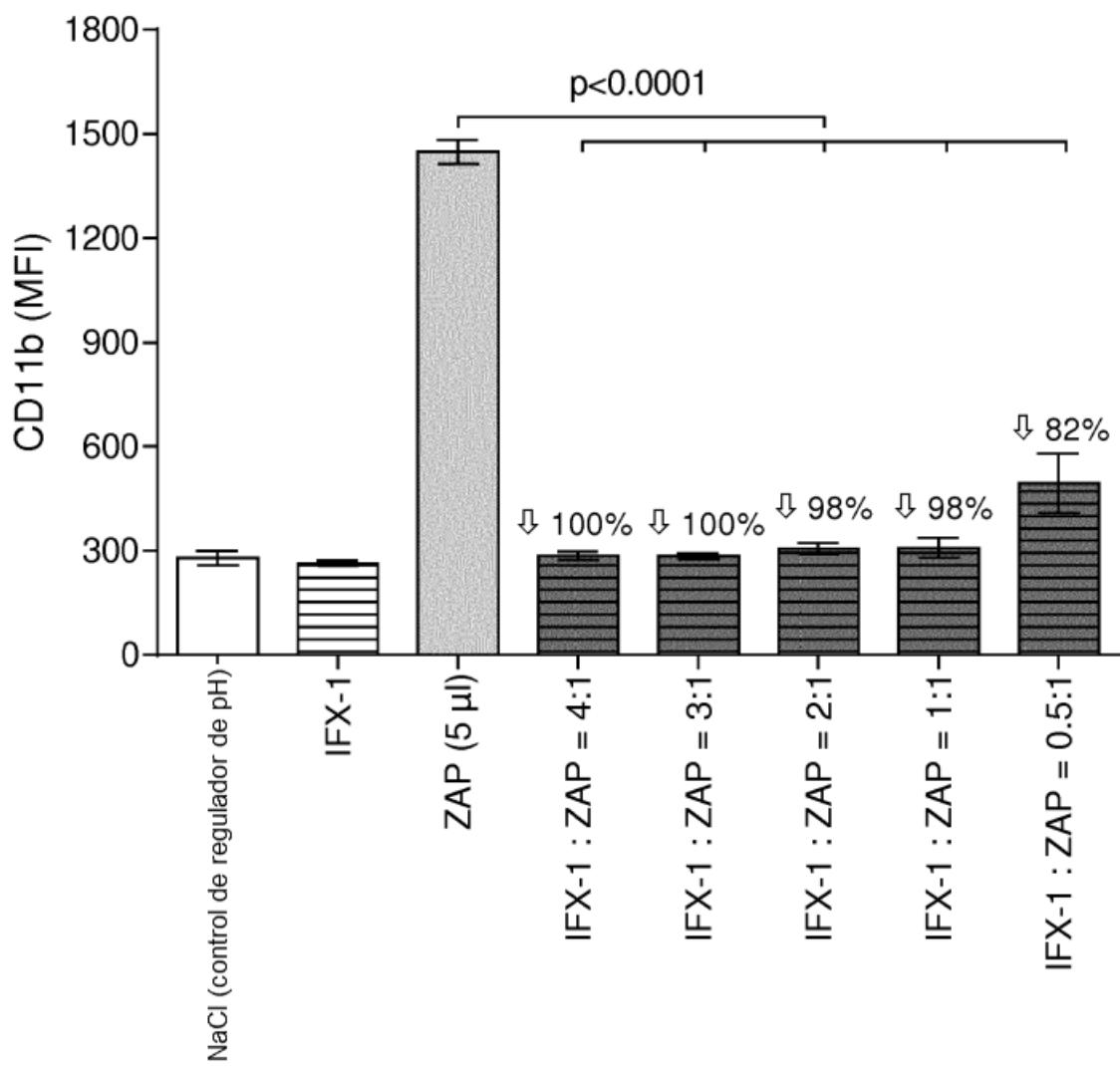
Fig. 2

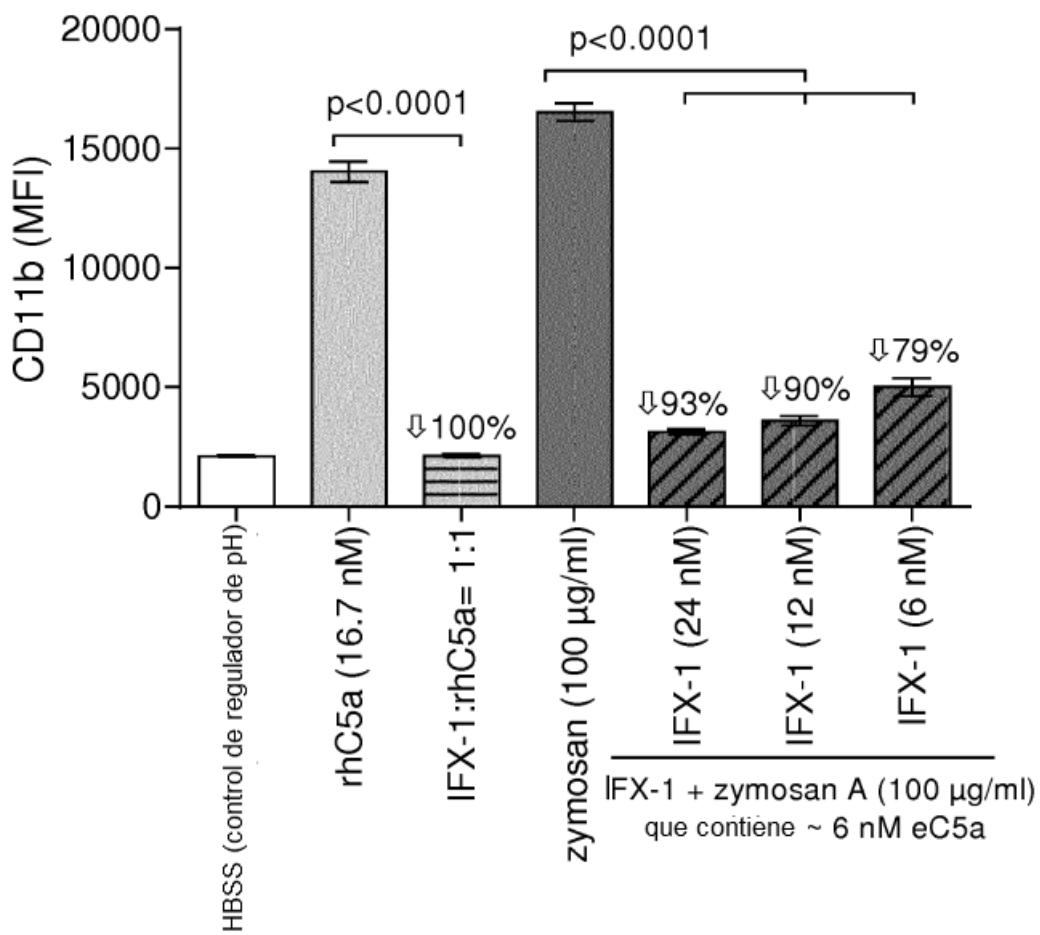
Fig. 3

Fig. 4

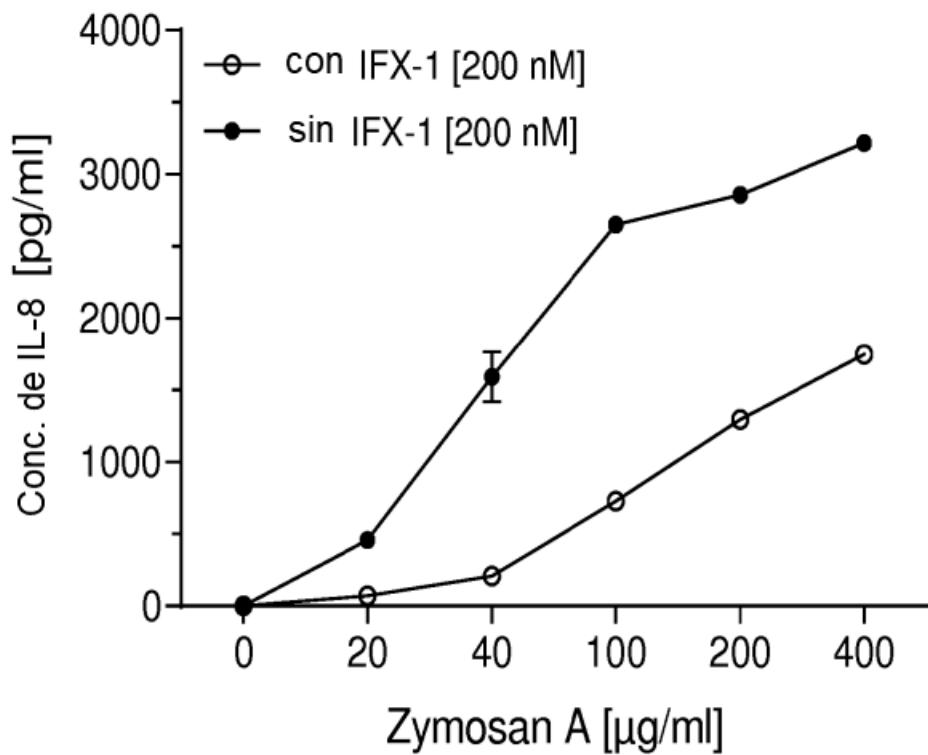


Fig. 5

Fig. 5A

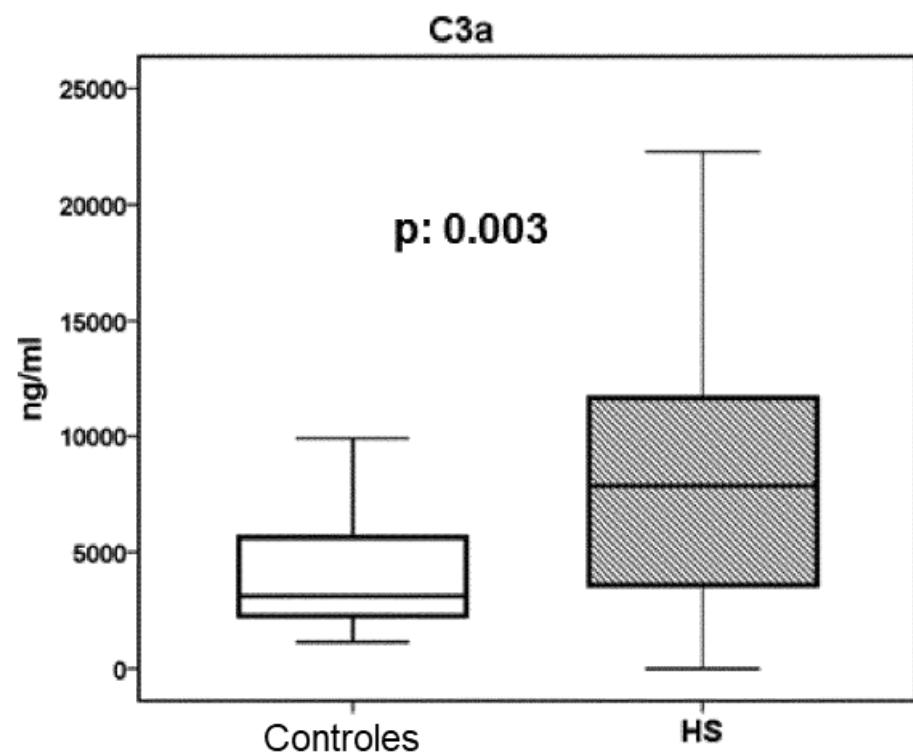


Fig. 5B

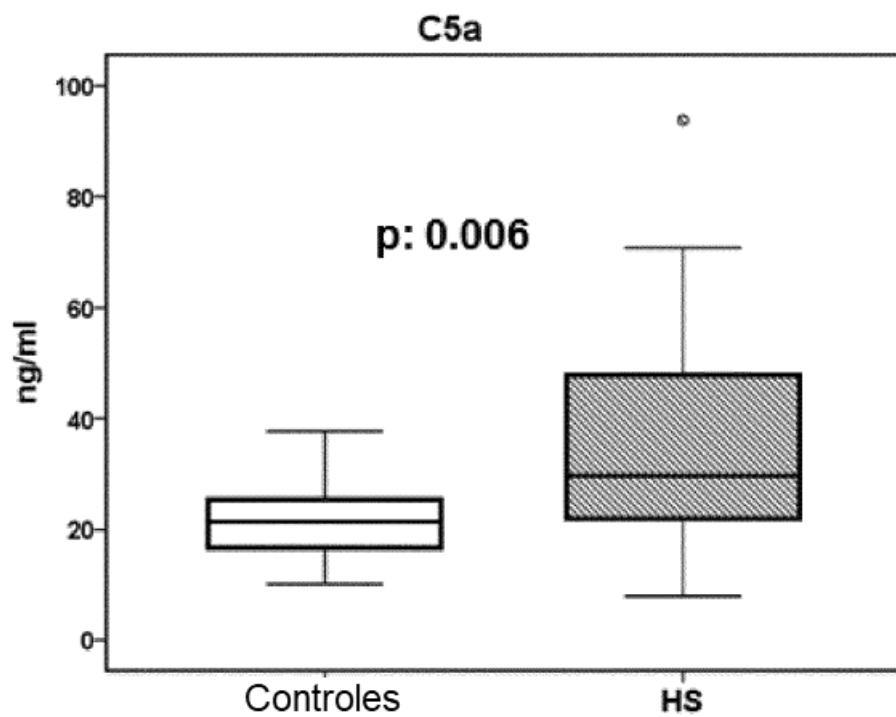


Fig. 5C

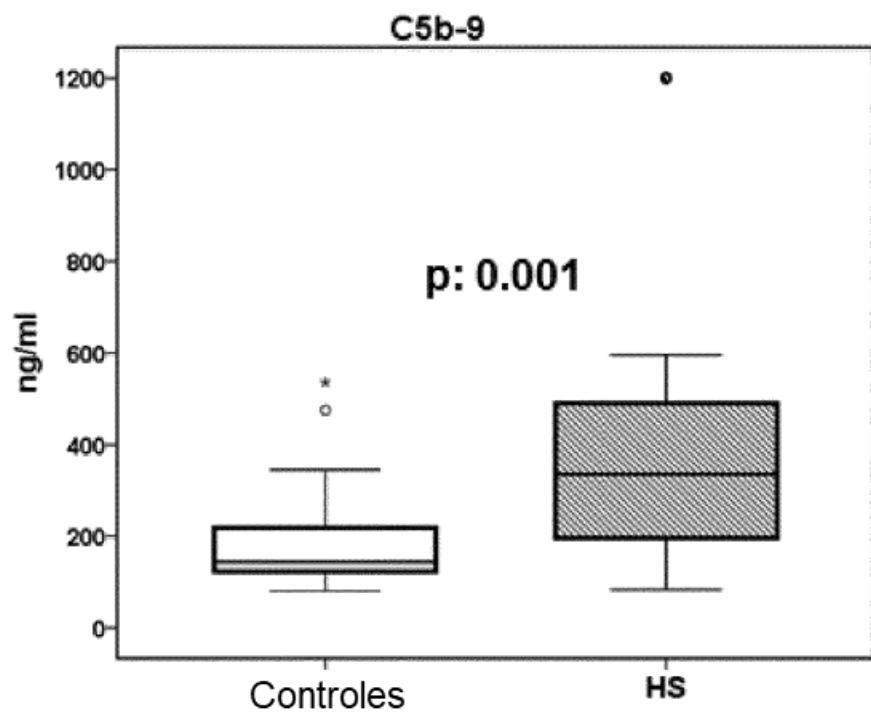


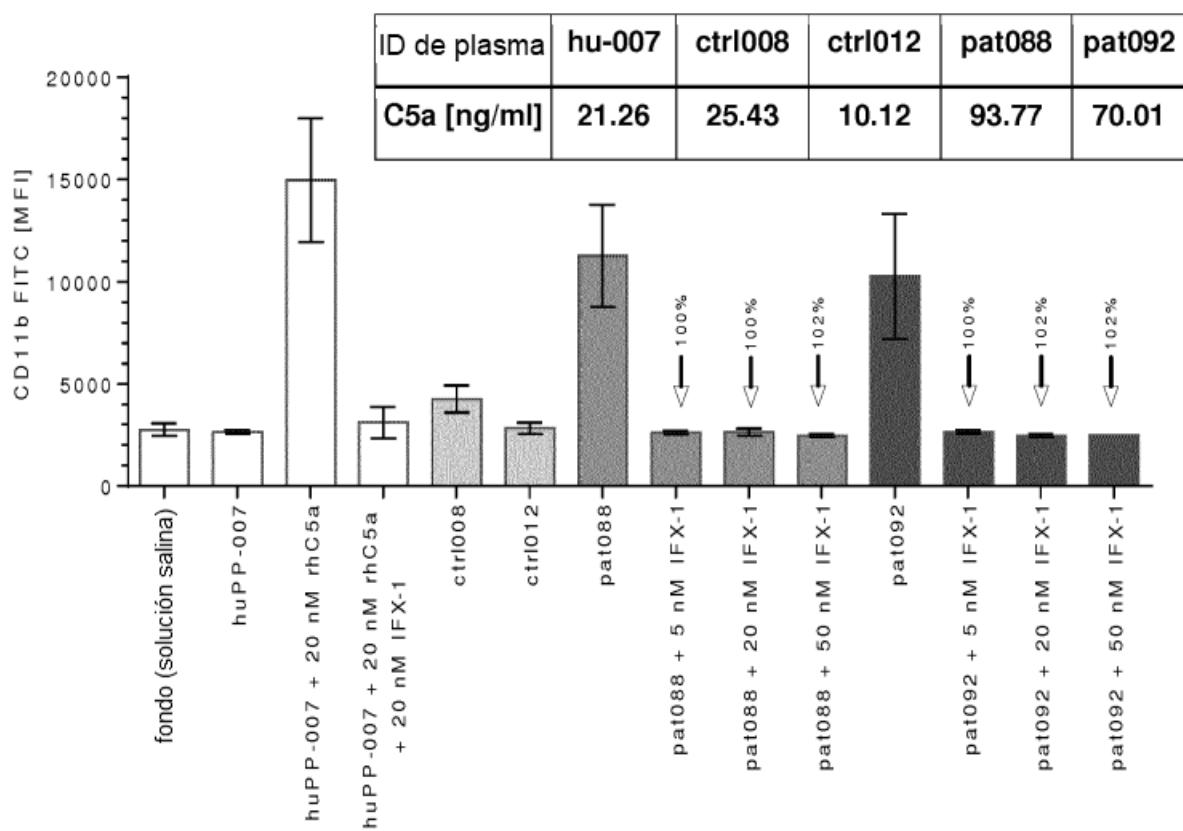
Fig. 6

Fig. 7