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

(21) BR 112021003789-6 A2

(22) Data do Depósito: 30/08/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 18/05/2021

(54) Título: MÉTODO PARA TRATAR ATAQUE DE ANGIOEDEMA HEREDITÁRIO (HAE) OU REDUZIR A TAXA DE ATAQUE DE HAE

(51) Int. Cl.: A61P 7/10; C07K 16/40.

(30) Prioridade Unionista: 21/02/2019 US 62/808,612; 30/08/2018 US 62/725,216.

(71) Depositante(es): DYAX CORP..

(72) Inventor(es): PENG LU; CHRISTINA NURSE; XINMING HAO.

(86) Pedido PCT: PCT US2019048961 de 30/08/2019

(87) Publicação PCT: WO 2020/047352 de 05/03/2020

(85) Data da Fase Nacional: 26/02/2021

(57) Resumo: MÉTODO PARA TRATAR ATAQUE DE ANGIOEDEMA HEREDITÁRIO (HAE) OU REDUZIR A TAXA DE ATAQUE DE HAE São providos neste documento métodos para tratar e prevenir ataques de angioedema hereditário em certas subpopulações de pacientes humanos usando ligação de anticorpos à calicreína plasmática ativa com regimes de tratamento específicos, por exemplo, a cerca de 300 mg a cada duas semanas. As subpopulações de pacientes humanos exemplares incluem pacientes do sexo feminino, pacientes com menos de 18 anos, entre 40 e menos de 65 anos, pacientes adolescentes, pacientes que tiveram um ou mais ataques laríngeos anteriores, pacientes que tiveram entre 1 e 2, 2 e 3, ou mais de 3 ataques de HAE nas quatro semanas anteriores à primeira dose do primeiro período de tratamento; e/ou receberam tratamento com um inibidor de C1 antes do primeiro período de tratamento.

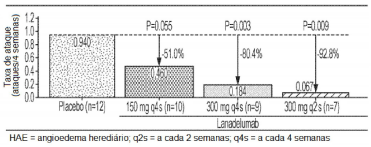


FIG. 1A

MÉTODO PARA TRATAR ATAQUE DE ANGIOEDEMA HEREDITÁRIO (HAE) OU REDUZIR A TAXA DE ATAQUE DE HAE

PEDIDOS RELACIONADOS

[0001] Este pedido, reivindica o benefício do pedido sob 35 U.S.C. § 119(e) de pedido provisional dos Estados Unidos número 62/725.216, depositado em 30 de augusto de 2018, e pedido provisional número 62/808.612, depositado 21 de fevereiro 2019, cada um do qual é incorporado por referência neste documento em sua totalidade.

FUNDAMENTOS

[0002] A calicreína plasmática é um componente de serina protease do sistema de contato e uma droga alvo em potencial para diferentes doenças inflamatórias, cardiovasculares, infecciosas (sepse) e oncológicas (Sainz I.M. et al., *Thromb Haemost* 98, 77-83, 2007). O sistema de contato é ativado ou pelo fator XIIa mediante exposição a superfícies estranhas ou carregadas negativamente ou em superfícies de células endoteliais por prolilcarboxipeptidases (Sainz I.M. et al., *Thromb Haemost* 98, 77-83, 2007). A ativação da calicreína plasmática amplifica coagulação intrínseca através de sua ativação por feedback do fator XII e potencializa a inflamação através da produção do nonapeptídeo pró-inflamatório, bradicinina. Como a cininogenase primária na circulação, calicreína plasmática é amplamente responsável pela geração de bradicinina na vasculatura. Uma deficiência genética da proteína inibidora de C1 (C1-INH), a principal inibidora natural de calicreína plasmática, leva ao angioedema hereditário (HAE). Pacientes com HAE sofrem de ataques agudos de edema doloroso, frequentemente provocado por gatilhos desconhecidos (Zuraw B.L. et al. *N Engl J Med* 359, 1027-1036, 2008).

RESUMO

[0003] São providos neste documento terapias para tratar ataque de angioedema hereditário (HAE), reduzir a taxa de ataque de HAE ou bloquear ataque de HAE usando anticorpos capazes de se ligar e inibir a

calicreína plasmática humana (pKal) na forma ativa, por exemplo, anticorpos tendo as mesmas regiões determinantes de complementariedade (CDRs) que DX-2930 (*conhecido como* SHP643, lanadelumab).

[0004] Em alguns aspectos, a presente divulgação provê métodos para tratar ataque de angioedema hereditário (HAE) ou reduzir a taxa de ataque de HAE compreendendo administrar (por exemplo, por via subcutânea), a um indivíduo humano em necessidade dos mesmos, qualquer um dos anticorpos descritos neste documento (por exemplo, DX-2930). Em algumas modalidades, o anticorpo é administrado ao indivíduo em doses múltiplas de cerca de 300 mg a cada duas semanas em um primeiro período de tratamento. Em algumas modalidades, o indivíduo tem, é suspeito de ter, ou está em risco de HAE e é do sexo feminino; menos de 18 anos ou entre 40 e 65 anos; e/ou sofreu pelo menos um ataque de HAE laríngeo anterior.

[0005] Em alguns aspectos, a presente divulgação provê métodos para tratar ataque de angioedema hereditário (HAE) ou reduzir a taxa de ataque de HAE compreendendo administrar (por exemplo, por via subcutânea), a um indivíduo humano em necessidade dos mesmos, qualquer um dos anticorpos descritos neste documento (por exemplo, DX-2930). Em algumas modalidades, o anticorpo é administrado ao indivíduo humano em cerca de 150 mg a cada quatro semanas, a cerca de 300 mg a cada quatro semanas ou a cerca de 300 mg a cada duas semanas. Em algumas modalidades, o indivíduo é um adolescente com idade entre 12 e 18 anos.

[0006] Qualquer um dos métodos descritos neste documento pode compreender adicionalmente administrar ao indivíduo o anticorpo por um segundo período de tratamento após o primeiro período de tratamento. Em algumas modalidades, a primeira dose do segundo período de tratamento é de cerca de duas semanas após a última dose do primeiro

período de tratamento. Em algumas modalidades, o segundo período de tratamento compreende uma ou mais doses do anticorpo a cerca de 300 mg. Em algumas modalidades, o segundo período de tratamento compreende múltiplas doses do anticorpo a cerca de 300 mg a cada duas semanas.

[0007] Qualquer um dos métodos descritos neste documento pode compreender adicionalmente (a) administrar ao indivíduo humano o anticorpo em uma dose única de cerca de 300 mg após o primeiro período de tratamento; e (b) administrar adicionalmente ao indivíduo o anticorpo em uma ou mais doses de cerca de 300 mg, se o indivíduo sofrer um ataque de HAE após (a). Em algumas modalidades, na etapa (b), o anticorpo é administrado ao indivíduo em múltiplas doses a cerca de 300 mg a cada duas semanas. Em algumas modalidades, a primeira dose da etapa (b) é dentro de uma semana após o ataque de HAE. Em algumas modalidades, a dose única de (a) e a primeira dose de (b) são em pelo menos 10 dias entre si.

[0008] Em qualquer um dos métodos descritos neste documento, o indivíduo humano pode ter HAE do tipo I ou tipo II. Por exemplo, o indivíduo pode ter sofrido pelo menos dois ataques de HAE por ano antes do primeiro período de tratamento. Em algumas modalidades, o indivíduo teve pelo menos um ataque de HAE nas quatro semanas anteriores à primeira dose do primeiro período de tratamento, ou pelo menos dois ataques de HAE nas oito semanas anteriores à primeira dose do primeiro período de tratamento.

[0009] Em algumas modalidades, o indivíduo a ser tratado por qualquer um dos métodos descritos neste documento, os quais envolvem o uso de qualquer um dos anticorpos anti-PKal descrito neste documento (por exemplo, DX-2930), recebeu um ou mais tratamentos de HAE antes da primeira dose do anticorpo anti-pKal. Tais tratamentos de HAE anteriores podem envolver um inibidor de C1 (por exemplo, C1-INH), um inibidor de

calicreína plasmática (por exemplo, ecalantida), um antagonista de receptor de bradicinina (por exemplo, icatibanto), um androgênio (por exemplo, danazol), um agente antifibrinolítico (por exemplo, ácido tranexâmico) ou uma combinação dos mesmos. Tal indivíduo poderá ser submetido a um período de redução gradual para passar gradualmente do tratamento de HAE anterior para o tratamento com anticorpo anti-pKal descrito neste documento. Em alguns exemplos, o período de redução gradual é de cerca de 2 a 4 semanas. O tratamento de HAE anterior poderá terminar ou antes da primeira dose do anticorpo ou dentro de três semanas depois de a primeira dose do anticorpo ao indivíduo. Alternativamente, o indivíduo pode sofrer transição direta de qualquer um dos tratamentos de HAE anteriores para o tratamento com anticorpo anti-pKal conforme descrito neste documento.

[0010] Em algumas modalidades, o indivíduo não recebeu um tratamento de HAE antes da primeira dose do anticorpo anti-pKal. Em algumas modalidades, o indivíduo não obteve tratamento de HAE anterior pelo menos duas semanas antes da primeira dose do anticorpo.

[0011] Em algumas modalidades, o indivíduo não obteve uma profilaxia de longo prazo para HAE, ou um tratamento de HAE que envolva um inibidor da enzima conversora de angiotensina (ACE), uma medicação contendo estrogênio, ou um androgênio antes do primeiro período de tratamento, durante o primeiro período de tratamento, e/ou durante o segundo período de tratamento.

[0012] Em algumas modalidades, o anticorpo é um anticorpo completo ou um fragmento de ligação de antígeno do mesmo. Em alguns exemplos, o anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada estabelecida por SEQ ID NO: 3 e/ou uma região variável de cadeia leve estabelecida por SEQ ID NO: 4. Em alguns exemplos, o anticorpo compreende uma cadeia pesada estabelecida por SEQ ID NO: 1 e uma cadeia leve estabelecida por SEQ ID NO: 2.

[0013] Em qualquer um dos métodos descritos neste documento, o anticorpo pode ser formulado em uma composição farmacêutica compreendendo um carreador farmaceuticamente aceitável. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende fosfato de sódio, ácido cítrico, histidina, cloreto de sódio e polissorbato 80. Em um exemplo, o fosfato de sódio está em uma concentração de cerca de 30 mM, o ácido cítrico está em uma concentração de cerca de 19 mM, a histidina está em uma concentração de cerca de 50 mM, o cloreto de sódio está em uma concentração de cerca de 90 mM, e o polissorbato 80 está a cerca de 0,01%.

[0014] Os detalhes de uma ou mais modalidades da invenção estão estabelecidos na descrição abaixo. Outras características ou vantagens da presente invenção serão evidentes a partir dos seguintes desenhos e da descrição detalhada de várias modalidades, e também a partir das reivindicações em anexo.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0015] As Figuras de 1A a 1C incluem gráficos da regressão de Poisson de ataques de HAE confirmados pelo investigador durante o período de tratamento (dias 0 a 182) para pacientes com base no número de ataques de HAE durante o período de tratamento. A Figura 1A: 1 a <2 ataques de HAE por mês no período de pré-tratamento. A Figura 1B: 2 a <3 ataques de HAE por mês no período de pré-tratamento. A Figura 1C: ≥3 ataques de HAE por mês no período de pré-tratamento.

[0016] As Figuras de 2A a 2B incluem diagramas que mostram as taxas de ataque de HAE em pacientes que anteriormente receberam profilaxia de longo prazo com inibidor de C1 (C1-INH). A Figura 2A: média (desvio padrão) histórica (3 meses), linha de base e durante o tratamento com lanadelumab (dias 0 a 182), taxas de ataque de HAE por mês. A Figura 2B: redução nas taxas de ataque de HAE em pacientes de HAE em cada um dos grupos de tratamento com lanadelumab indicados.

[0017] As Figuras de 3A a 3C incluem gráficos da taxa de ataque de HAE mensal em indivíduos adolescentes. A Figura 3A: mostra um gráfico da taxa de ataque mensal das médias dos mínimos quadrados (LS) estimada com relação ao placebo para pacientes adolescentes com intervalo de confiança de 95%. A Figura 3B: um gráfico da taxa de ataque de HAE mensal durante o período de tratamento com lanadelumab com relação a linha de base para indivíduos adolescentes advindos de fases anteriores e não advindos de fases anteriores. A Figura 3C: mostra um gráfico da taxa de ataque mensal das médias dos mínimos quadrados estimada (com relação ao placebo), com intervalo de confiança de 95%, para pacientes adolescentes em cada um dos grupos de tratamento com lanadelumab indicados.

[0018] As Figuras de 4A a 4E mostram gráficos das reduções percentuais da taxa de ataque de HAE, com intervalo de confiança de 95%, a partir de placebo para cada um dos dados demográficos indicados. A Figura 4A: idade; A Figura 4B: sexo; A Figura 4C: peso; A Figura 4D: Tipo HAE; A Figura 4E: história de ataques laríngeos. Para cada um dos grupos indicados, as colunas correspondem a, a partir da esquerda para a direita, 150 mg a cada 4 semanas, 300 mg a cada 4 semanas e 300 mg a cada 2 semanas. O “n” abaixo do gráfico se refere ao número de indivíduos em cada grupo.

[0019] A Figura 5 mostra um gráfico em floresta da razão da taxa do número de ataques de HAE confirmados pelo investigador com base nos dados demográficos indicados.

DESCRIÇÃO DETALHADA

Definições

[0020] Para conveniência, antes de descrição adicional da presente invenção, certos termos empregados no relatório descritivo, exemplos e reivindicações anexadas são definidos aqui. Outros termos são definidos conforme eles aparecem no relatório descritivo.

[0021] As formas singulares "um", "uma" e "o/a" incluem referências plurais, a menos que o contexto claramente dite o contrário.

[0022] Conforme usado neste documento, o termo “cerca de” se refere a um valor em particular +/- 5%. Por exemplo, um anticorpo a cerca de 300 mg inclui qualquer quantidade do anticorpo entre 285 mg a 315 mg.

[0023] O termo "anticorpo" se refere a uma molécula de imunoglobulina capaz de se ligar especificamente a um alvo, tal como um carboidrato, polinucleotídeo, lipídio, polipeptídeo, *etc.*, através de pelo menos um sítio de reconhecimento do antígeno localizado na região variável da molécula de imunoglobulina. Um anticorpo pode incluir pelo menos uma cadeia pesada (H) que compreende um domínio variável de imunoglobulina de cadeia pesada (V_H), pelo menos uma cadeia leve que compreende um domínio variável de imunoglobulina de cadeia leve (V_L) ou ambos. Por exemplo, um anticorpo pode incluir uma região variável de cadeia pesada (H) (abreviada neste documento como V_H ou HV) e uma região variável de cadeia leve (L) (abreviada neste documento como V_L ou LV). Em outro exemplo, um anticorpo inclui duas regiões variáveis de cadeia pesada (H) e duas regiões variáveis de cadeia leve (L).

[0024] Conforme usado neste documento, o termo "anticorpo" engloba não somente anticorpos policlonais ou monoclonais intactos (*ou seja*, completos), mas também fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos (tais como Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv), cadeia simples (scFv), fragmentos de anticorpo de domínio (dAb) (de Wildt *et. al., Euro. J. Immunol.* (1996) 26(3): 629-639), quaisquer mutantes dos mesmos, proteínas de fusão compreendendo uma porção de anticorpo, anticorpos humanizados, anticorpos quiméricos, diabodies, anticorpos lineares, anticorpos de cadeia única, anticorpos multiespecíficos (por exemplo, anticorpos biespecíficos) e qualquer outra configuração modificada da molécula de imunoglobulina que compreende um sítio de reconhecimento do antígeno da especificidade exigida, incluindo variantes de glicosilação

de anticorpos, variantes de sequências de aminoácidos de anticorpos e anticorpos covalentemente modificados. Um anticorpo inclui um anticorpo de qualquer classe, tais como IgD, IgE, IgG, IgA ou IgM (ou uma subclasse dos mesmos), e o anticorpo não precisa ser de nenhuma classe em particular. Dependendo da sequência de aminoácidos do anticorpo do domínio constante de suas cadeias pesadas, imunoglobulinas podem ser designadas para classes diferentes. Existem cinco classes principais de imunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, e várias delas podem ser divididas adicionalmente em subclasses (isotipos), por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. Os domínios constantes de cadeia pesada que correspondem às classes diferentes de imunoglobulinas são chamados alfa, delta, épsilon, gama e mu, respectivamente. As estruturas das subunidades e configurações tridimensionais de classes diferentes de imunoglobulinas são bem conhecidas. Os anticorpos podem ser de qualquer fonte, mas de primatas (primatas humanos e não humanos) e primatizados são preferenciais.

[0025] As regiões V_H e/ou V_L podem incluir toda ou parte da sequência de aminoácidos de um domínio variável de ocorrência natural. Por exemplo, a sequência pode omitir um, dois ou mais aminoácidos N ou C terminais, aminoácidos internos, pode incluir uma ou mais inserções ou aminoácidos terminais adicionais, ou pode incluir outras alterações. Em uma modalidade, um polipeptídeo que inclui a sequência de domínio variável de imunoglobulina pode se associar a outra sequência de domínio variável de imunoglobulina para formar um sítio de ligação ao antígeno, por exemplo, uma estrutura que interage preferencialmente com calicreína plasmática.

[0026] As regiões V_H e V_L podem ser adicionalmente subdivididas em regiões de hipervariabilidade, denominadas "regiões determinantes de complementariedade" ("CDRs"), intercaladas com regiões que são mais conservadas, denominadas "regiões de framework" ("FRs"). A

extensão da região de framework e CDRs foram definidas (vide, Kabat, E.A., et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest,* Fifth Edition, U.S. Department of Healthand Human Services, NIH Publication No. 91-3242, e Chothia, C. et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917). Definições de Kabat são usadas neste documento. Cada VH e VL é tipicamente composta por três CDRs e quatro FRs, dispostas a partir do amino terminal até o carboxi terminal na seguinte ordem: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[0027] Adicionalmente às regiões V_H ou V_L, a cadeia pesada ou a cadeia leve do anticorpo pode incluir adicionalmente toda ou parte de uma região constante de cadeia leve ou pesada. Em uma modalidade, o anticorpo é um tetrâmero de duas cadeias de imunoglobulina pesadas e duas cadeias de imunoglobulina leves, em que as cadeias de imunoglobulina pesada e leve são interligadas, por exemplo, por ligações dissulfeto. Em IgGs, a região constante de cadeia pesada inclui três domínios de imunoglobulina, CH1, CH2 e CH3. A região constante de cadeia leve inclui um domínio CL. A região variável das cadeias pesada e leve contém um domínio de ligação que interage com um antígeno. As regiões constantes dos anticorpos tipicamente mediam a ligação do anticorpo a tecidos ou fatores do hospedeiro, incluindo várias células do sistema imune (por exemplo, células efetoras) e o primeiro componente (Clq) do sistema complemento clássico. As cadeias leves da imunoglobulina podem ser do tipo kappa ou lambda. Em uma modalidade, o anticorpo é glicosilado. Um anticorpo pode ser funcional para citotoxicidade dependente do anticorpo e/ou citotoxicidade mediada por complemento.

[0028] Uma ou mais regiões de um anticorpo pode ser humana ou efetivamente humana. Por exemplo, uma ou mais das regiões variáveis podem ser humanas ou efetivamente humanas. Por exemplo, uma ou mais das CDRs podem ser humanas, por exemplo, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2 e/ou LC CDR3. Cada uma das CDRs de cadeia

leve (LC) e/ou de cadeia pesada (HC) pode ser humana. A HC CDR3 pode ser humana. Uma ou mais das regiões de framework podem ser humanas, por exemplo, FR1, FR2, FR3 e/ou FR4 da HC e/ou LC. Por exemplo, a região Fc pode ser humana. Em uma modalidade, todas as regiões de framework são humanas, por exemplo, derivadas de uma célula somática humana, por exemplo, uma célula hematopoiética que produz imunoglobulinas ou uma célula não hematopoiética. Em uma modalidade, as sequências humanas são sequências germinais, por exemplo, codificadas por um ácido nucleico germinal. Em uma modalidade, os resíduos de framework (FR) de um Fab selecionado podem ser convertidos no tipo de aminoácido do resíduo correspondente no gene germinal primata mais semelhante, especialmente o gene germinal humano. Uma ou mais das regiões constantes podem ser humanas ou efetivamente humanas. Por exemplo, pelo menos 70, 75, 80, 85, 90, 92, 95, 98 ou 100% de um domínio variável de imunoglobulina, a região constante, os domínios constantes (CH1, CH2, CH3 e/ou CL1), ou o anticorpo inteiro podem ser humanos ou efetivamente humanos.

[0029] Um anticorpo pode ser codificado por um gene de imunoglobulina ou um segmento do mesmo. Exemplos de genes de imunoglobulina humanos incluem os genes de região constante kappa, lambda, alfa (IgA1 e IgA2), gama (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), delta, épsilon e mu, bem como os muitos genes de região variável de imunoglobulina. "Cadeias leves" de imunoglobulina completas (cerca de 25 KDa ou cerca de 214 aminoácidos) são codificadas por um gene de região variável no NH2 terminal (cerca de 110 aminoácidos) e um gene de região constante kappa ou lambda no COOH terminal. "Cadeias pesadas" de imunoglobulina completas (cerca de 50 KDa ou cerca de 446 aminoácidos), são codificadas de maneira semelhante por um gene de região variável (cerca de 116 aminoácidos) e um dos outros genes de região constante mencionados acima, por exemplo, gama (que codifica cerca de 330 aminoácidos). O

comprimento da HC humana varia consideravelmente, pois a HC CDR3 varia a partir de cerca de 3 resíduos de aminoácidos até mais de 35 resíduos de aminoácidos.

[0030] O termo "fragmento de ligação de antígeno" de um anticorpo completo se refere a um ou mais fragmentos de um anticorpo completo que mantêm a capacidade de se ligar especificamente a um alvo de interesse. Exemplos de fragmentos de ligação englobados dentro do termo "fragmento de ligação ao antígeno" de um anticorpo completo e mantenham funcionalidade incluem (i) um fragmento Fab, um fragmento monovalente consistindo nos domínios V_L, V_H, C_L e CH1; (ii) um fragmento F(ab')2, um fragmento bivalente incluindo dois fragmentos Fab vinculados por uma ponte dissulfeto na região de dobradiça; (iii) um fragmento Fd consistindo nos domínios V_H e CH1; (iv) um fragmento Fv consistindo nos domínios V_L e V_H de um único braço de um anticorpo, (v) um fragmento dAb (Ward et al, (1989) Nature 341:544-546), o qual consiste em um domínio V_H; e (vi) uma região determinante de complementaridade (CDR) isolada. Adicionalmente, embora os dois domínios do fragmento Fv, V_L e V_H, sejam codificados por genes separados, eles podem ser unidos usando métodos de recombinação, por um vinculador sintético que lhes possibilita serem feitos como uma única cadeia proteica na qual as regiões V_L e V_H se pareiam para formar moléculas monovalentes conhecidas como Fv de cadeia simples (scFv). Vide, por exemplo, as Patente dos EUA nº 5.260.203, 4.946.778 e 4.881.175; Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426; e Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883. Fragmentos de anticorpos podem ser obtidos usando qualquer técnica apropriada incluindo técnicas convencionais conhecidas por aqueles versados na técnica.

[0031] O termo "anticorpo monoespecífico" se refere a um anticorpo que exibe uma única especificidade e afinidade de ligação por um alvo em particular, por exemplo, epítopo. Esse termo inclui um "anticorpo

monoclonal" ou "composição de anticorpo monoclonal", que, conforme usado neste documento, se refere a uma preparação de anticorpos ou fragmentos dos mesmos de uma única composição molecular, independentemente de como o anticorpo tenha sido gerado. Os anticorpos são "germinados" pela reversão de um ou mais aminoácidos não germinais em regiões de framework a aminoácidos germinais correspondentes do anticorpo, desde que as propriedades de ligação sejam substancialmente mantidas.

[0032] A constante de inibição (K_i) provê uma medida da potência do inibidor; é a concentração de inibidor exigida para reduzir a atividade enzimática pela metade e não é dependente das concentrações da enzima ou do substrato. A K_i aparente ($K_{i,app}$) é obtida em concentrações de substrato diferentes por medição do efeito inibitório de diferentes concentrações de inibidor (por exemplo, proteína de ligação inibitória) na extensão da reação (por exemplo, atividade enzimática); o ajuste da mudança da constante de taxa de pseudo-primeira ordem como uma função da concentração de inibidor à equação de Morrison (Equação 1) resulta em uma estimativa do valor de K_i aparente. A K_i é obtida a partir do ponto de intersecção com o eixo y extraído de uma análise de regressão linear de um gráfico de $K_{i,app}$ com relação à concentração de substrato.

$$v = v_o - v_o\left(\frac{\left(K_{i,app} + I + E\right) - \sqrt{\left(K_{i,app} + I + E\right)^2 - 4 \cdot I \cdot E}}{2 \cdot E}\right)$$

Equação 1

Onde v = velocidade medida; v0 = velocidade na ausência de inibidor; $K_{i,app}$ = constante de inibição aparente; I = concentração de inibidor total; e E = concentração enzimática total.

[0033] Conforme usado neste documento, "afinidade de ligação" se refere à constante de associação aparente ou K_A. A K_A é a recíproca da constante de dissociação (K_D). Um anticorpo de ligação pode, por exemplo, ter uma afinidade de ligação de pelo menos 105, 106, 107, 108, 109, 1010

e 1011 M-1 por uma molécula alvo em particular, por exemplo, calicreína plasmática. Maior afinidade de ligação de um anticorpo de ligação a um primeiro alvo em relação a um segundo alvo pode ser indicada por uma maior K_A (ou um menor valor numérico de K_D) para se ligar ao primeiro alvo do que a K_A (ou valor numérico de K_D) para se ligar ao segundo alvo. Em tais casos, o anticorpo de ligação tem especificidade pelo primeiro alvo (por exemplo, uma proteína em uma primeira conformação ou símile da mesma) em relação ao segundo alvo (por exemplo, a mesma proteína em uma segunda conformação ou símile da mesma; ou uma segunda proteína). Diferenças na afinidade de ligação (por exemplo, pela especificidade ou outras comparações) podem ser de pelo menos 1,5, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 70, 80, 90, 100, 500, 1000, 10.000 ou 10^5 vezes.

[0034] A afinidade de ligação pode ser determinada por uma variedade de métodos, incluindo diálise de equilíbrio, ligação de equilíbrio, filtração em gel, ELISA, ressonância plasmônica de superfície ou espectroscopia (por exemplo, usando um ensaio de fluorescência). Exemplos de condições para avaliar a afinidade de ligação estão no tampão HBS-P (HEPES a 10 mM, pH 7,4, NaCl a 150 mM, 0,005% (v/v) Surfactante P20). Essas técnicas podem ser usadas para medir a concentração de proteína de ligação livre e ligada em função da concentração de proteína de ligação (ou alvo). A concentração de proteína de ligação ligada ([Ligada]) está relacionada à concentração de proteína de ligação livre ([Livre]), e a concentração de sítios de ligação para a proteína de ligação sobre o alvo onde (N) é o número de sítios de ligação por molécula alvo pela seguinte equação:

[Ligada] = N · [Livre]/((1/KA) + [Livre]).

[0035] Não é sempre necessário fazer uma determinação exata de K_A, embora, visto que às vezes é suficiente obter uma medição quantitativa de afinidade, por exemplo, determinada usando um método tal como análise por ELISA ou FACS, é proporcional a K_A, e, deste modo,

pode ser usada para comparações, tais como determinar se uma maior afinidade é, por exemplo, 2 vezes maior, para obter uma medição qualitativa de afinidade, ou para obter uma inferência de afinidade, por exemplo, pela atividade em um ensaio funcional, por exemplo, um ensaio in vitro ou in vivo.

[0036] O termo "anticorpo de ligação" (ou "proteína de ligação", usados de maneira intercambiável neste documento) se refere a um anticorpo que pode interagir com uma molécula alvo. O termo "molécula alvo" é usado de maneira intercambiável com "ligante". Um "anticorpo de ligação à calicreína plasmática" se refere a um anticorpo que pode interagir com (por exemplo, ligar) calicreína plasmática e inclui, particularmente, anticorpos que preferencialmente ou especificamente interagem com e/ou inibem a calicreína plasmática. Um anticorpo inibe a calicreína plasmática se causar uma diminuição na atividade da calicreína plasmática em comparação com a atividade da calicreína plasmática na ausência do anticorpo e sob as mesmas condições.

[0037] Uma "substituição de aminoácido conservadora" é uma na qual o resíduo de aminoácido é substituído com um resíduo de aminoácido tendo uma cadeia lateral semelhante. Famílias de resíduos de aminoácidos com cadeias laterais semelhantes foram definidas na técnica. Essas famílias incluem aminoácidos com cadeias laterais básicas (por exemplo, lisina, arginina, histidina), cadeias laterais ácidas (por exemplo, ácido aspártico, ácido glutâmico), cadeias laterais polares não carregadas (por exemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadeias laterais apolares (por exemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptofano), cadeias laterais com ramificações beta (por exemplo, treonina, valina, isoleucina) e cadeias laterais aromáticas (por exemplo, tirosina, fenilalanina, triptofano, histidina).

[0038] É possível que um ou mais resíduos de aminoácidos de CDR e/ou de framework de uma proteína de ligação incluam uma ou mais

mutações (por exemplo, substituições (por exemplo, substituições conservativas ou substituições de aminoácidos não essenciais), inserções ou deleções) em relação a uma proteína de ligação descrita neste documento. Uma proteína de ligação à calicreína plasmática pode ter mutações (por exemplo, substituições (por exemplo, substituições conservativas ou substituições de aminoácidos não essenciais), inserções ou deleções) (por exemplo, pelo menos uma, duas, três, ou quatro, e/ou menos de 15, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 ou 2 mutações) em relação a uma proteína de ligação descrita neste documento, por exemplo, mutações que não tenham um efeito substancial na função da proteína. As mutações podem estar presentes em regiões de framework, CDRs e/ou regiões constantes. Em algumas modalidades, as mutações estão presentes em uma região de framework. Em algumas modalidades, as mutações estão presentes em uma CDR. Em algumas modalidades, as mutações estão presentes em uma região constante. Pode-se prever se uma substituição em particular será tolerada ou não, *ou seja*, não afetará negativamente propriedades biológicas, tais como a atividade de ligação, por exemplo, avaliando se a mutação é conservativa ou pelo método de Bowie, et al. (1990) *Science* 247:1306-1310.

[0039] Uma região variável de imunoglobulina "efetivamente humana" é uma região variável de imunoglobulina que inclui um número suficiente de posições de aminoácidos de estrutura humana, tal que a região variável da imunoglobulina não provoca uma resposta imunogênica em um humano normal. Um anticorpo "efetivamente humano" é um anticorpo que inclui um número suficiente de posições de aminoácidos humanas, de tal modo que o anticorpo não provoque uma resposta imunogênica em um humano normal.

[0040] Um "epítopo" se refere ao sítio em um composto alvo que é ligado por uma proteína de ligação (por exemplo, um anticorpo tal como um anticorpo Fab ou um anticorpo completo). No caso onde o composto

alvo seja uma proteína, o sítio poderá ser inteiramente composto por componentes de aminoácidos, inteiramente composto por modificações químicas de aminoácidos da proteína (por exemplo, frações glicosila), ou composto por combinações dos mesmos. Os epítopos sobrepostos incluem pelo menos um resíduo de aminoácido, grupo glicosila, grupo fosfato, grupo sulfato ou outra característica molecular em comum.

[0041] Uma região variável de imunoglobulina "humanizada" é uma região variável de imunoglobulina que é modificada para incluir um número suficiente de posições de aminoácidos de estrutura humana, tal que a região variável da imunoglobulina não provoca uma resposta imunogênica em um humano normal. Descrições de imunoglobulinas "humanizadas" incluem, por exemplo, US 6.407.213 e US 5.693.762.

[0042] Um anticorpo "isolado" se refere a um anticorpo que é removido a partir de pelo menos 90% de pelo menos um componente de uma amostra natural da qual o anticorpo isolado pode ser obtido. Os anticorpos podem ser "de pelo menos" um certo grau de pureza se a espécie ou população de espécies de interesse for pelo menos 5, 10, 25, 50, 75, 80, 90, 92, 95, 98 ou 99% pura em uma relação peso-peso.

[0043] Os métodos descritos neste documento envolvem administrar doses múltiplas de um anticorpo a um indivíduo humano em necessidade das mesmas. Os termos "paciente", "indivíduos" ou "hospedeiro" podem ser usados de maneira intercambiável. Um indivíduo pode ser um indivíduo que tenha passado por um tratamento anterior para HAE, tal como um tratamento que envolve um anticorpo descrito neste documento. Em algumas modalidades, o indivíduo é um indivíduo pediátrico (por exemplo, um indivíduo bebê, criança ou adolescente). Em algumas modalidades, o indivíduo humano é um adolescente com menos de 18 anos. Em algumas modalidades, o indivíduo humano é um adolescente com idade entre 12 e 18 anos. Em algumas modalidades, o indivíduo tem entre 40 e menos de 65 anos de idade.

[0044] Em algumas modalidades, o indivíduo humano é definido pelo gênero. Por exemplo, em algumas modalidades, o indivíduo é do sexo feminino.

[0045] Em algumas modalidades, o indivíduo humano é definido pelo peso. Em algumas modalidades, o indivíduo humano pesa menos de 50 kg. Em algumas modalidades, o indivíduo humano pesa entre 50 kg e 75 kg. Em algumas modalidades, o indivíduo humano pesa entre 75 kg e 100 kg. Em algumas modalidades, o indivíduo humano pesa 100 kg ou mais.

[0046] Em algumas modalidades, o indivíduo humano é definido pela história anterior de ataques laríngeos ou ausência dos mesmos. Em algumas modalidades, o indivíduo sofreu pelo menos um (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5 ou mais) ataque laríngeo (*ou seja,* ataque laríngeo de HAE) antes da administração dos anticorpos descritos neste documento. Em algumas modalidades, o indivíduo não sofreu um ataque laríngeo antes da administração dos anticorpos descritos neste documento.

[0047] Os termos "pré-calicreína" e "calicreína pré-plasmática" são usados de maneira intercambiável neste documento e se referem à forma zimogênica da calicreína plasmática ativa, que também é conhecida como pré-calicreína.

[0048] Conforme usado neste documento, o termo "substancialmente idêntico" (ou "substancialmente homólogo") é usado neste documento para se referir a uma primeira sequência de aminoácidos ou de ácidos nucleicos que contém um número suficiente de resíduos de aminoácidos ou de nucleotídeos idêntico ou equivalente (por exemplo, com uma cadeia lateral semelhante, por exemplo, substituições de aminoácidos conservativas) a uma segunda sequência de aminoácidos ou de ácidos nucleicos, de tal modo que a primeira e a segunda sequências de aminoácidos ou de ácidos nucleicos tenha (ou codifique proteínas tendo) atividades semelhantes, por exemplo, uma atividade de ligação, uma preferência de ligação ou uma atividade biológica. No caso de anticorpos, o

segundo anticorpo tem a mesma especificidade e tem pelo menos 50%, pelo menos 25% ou pelo menos 10% da afinidade em relação ao mesmo antígeno.

[0049] A significância estatística pode ser determinada por qualquer método conhecido da técnica. Exemplos de testes estatísticos incluem: o teste T de Student, teste U não paramétrico de Mann Whitney e teste estatístico não paramétrico de Wilcoxon. Algumas relações estatisticamente significativas têm um valor de P inferior a 0,05 ou 0,02. Proteínas de ligação em particular podem mostrar uma diferença, por exemplo, na especificidade ou ligação, que é estatisticamente significativa (por exemplo, valor de P < 0,05 ou 0,02). Os termos "induzir", "inibir", "potencializar", "elevar", "aumentar", "diminuir" ou semelhantes, por exemplo, que denotam diferenças qualitativas ou quantitativas discerníveis entre dois estados, podem se referir a uma diferença, por exemplo, uma diferença estatisticamente significante, entre os dois estados.

[0050] Uma "dosagem terapeuticamente eficaz" modula preferencialmente um parâmetro mensurável, por exemplo, a atividade da calicreína plasmática, em um grau estatisticamente significativo ou pelo menos cerca de 20%, mais preferencialmente em pelo menos cerca de 40%, ainda mais preferencialmente em pelo menos cerca de 60% e ainda mais preferencialmente em pelo menos cerca de 80% em relação a indivíduos não tratados. A capacidade de um composto de modular um parâmetro mensurável, por exemplo, um parâmetro associado à doença, pode ser avaliada em um sistema de modelo animal preditivo de eficácia em distúrbios e condições humanas. Alternativamente, essa propriedade de uma composição pode ser avaliada examinando-se a capacidade do composto modular um parâmetro in vitro.

[0051] O termo "tratamento", conforme usado neste documento, se refere à aplicação ou administração de uma composição incluindo um ou mais agentes ativos a um indivíduo, que tem HAE, um sintoma de HAE, é

suspeito de ter HAE, ou uma predisposição para, ou risco de ter HAE, com o propósito de curar, sarar, aliviar, recuperar, alterar, remediar, amenizar, melhorar, ou afetar a doença, os sintomas da doença, ou a predisposição para a doença. O "tratamento profilático", também conhecido como "tratamento preventivo", se refere a um tratamento que visa a proteção de uma pessoa de, ou reduzir o risco de uma doença para a qual a pessoa tenha sido, ou possa ser, exposta. Em algumas modalidades, os métodos de tratamento descritos neste documento visam a prevenção da ocorrência e/ou recorrência de HAE.

[0052] O termo "prevenção" de uma doença em um indivíduo se refere a submeter o indivíduo a um tratamento farmacêutico, por exemplo, à administração de uma droga, de tal modo que pelo menos um sintoma da doença seja prevenido, ou seja, administrado antes da manifestação clínica da condição indesejada (por exemplo, doença ou outro estado indesejado do animal hospedeiro), de modo que ele proteja o hospedeiro contra o desenvolvimento da condição indesejada. A "prevenção" da doença também pode ser referida como "profilaxia" ou "tratamento profilático."

[0053] Uma "quantidade profilaticamente eficaz" se refere a uma quantidade eficaz, em dosagens e por períodos de tempo necessário, para alcançar o resultado profilático desejado. Tipicamente, porque uma dose profilática é usada em indivíduos antes ou em um estágio inicial da doença, a quantidade profilaticamente eficaz será menor do que a quantidade terapeuticamente eficaz.

Ligação de Anticorpos à Calicreína Plasmática (pKal)

[0054] Os anticorpos de ligação à calicreína plasmática (anticorpos anti-pKal) para uso nos métodos descritos neste documento podem ser completos (por exemplo, uma IgG (incluindo uma IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA (incluindo IgA1, IgA2), IgD e IgE) ou podem incluir somente um fragmento de ligação ao antígeno (por exemplo, um fragmento Fab, $F(ab')_2$ ou scFv). O anticorpo de ligação pode incluir duas

imunoglobulinas de cadeia pesada e duas imunoglobulinas de cadeia leve, ou pode ser um anticorpo de cadeia simples. Os anticorpos de ligação à calicreína plasmática podem ser proteínas recombinantes, tais como anticorpos humanizados, enxertados com CDR, quiméricos, desimunizados, ou gerados *in vitro*, e podem, opcionalmente, incluir regiões constantes derivadas a partir de sequências de imunoglobulina germinais humanas. Em uma modalidade, o anticorpo de ligação à calicreína plasmática é um anticorpo monoclonal.

[0055] Em um aspecto, a divulgação apresenta um anticorpo (por exemplo, um anticorpo isolado) que se liga à calicreína plasmática (por exemplo, calicreína plasmática humana e/ou calicreína murina) e inclui pelo menos uma região variável de imunoglobulina. Por exemplo, o anticorpo inclui uma sequência de domínio variável de imunoglobulina de cadeia pesada (HC) e/ou uma sequência de domínio variável de imunoglobulina de cadeia leve (LC). Em uma modalidade, o anticorpo se liga e inibe a calicreína plasmática, por exemplo, calicreína plasmática humana e/ou calicreína murina.

[0056] Em algumas modalidades, os anticorpos descritos neste documento têm as mesmas sequências de CDR que DX-2930, por exemplo, sequências de CDR de cadeia pesada estabelecidas como SEQ ID NOs: 5 a 7 e sequências de CDR de cadeia leve estabelecidas como SEQ ID NOs: 8 a 10. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende as mesmas sequências de CDR que DX-2930 e uma sequência de domínio variável de imunoglobulina LC que é pelo menos 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, ou 100% idêntica a um domínio variável LC descrito neste documento (por exemplo, em geral ou nas regiões de framework). Em algumas modalidades, o anticorpo compreende as mesmas sequências de CDR que DX-2930 e uma sequência de domínio variável de imunoglobulina HC que é pelo menos 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, ou 100% idêntica a um domínio variável HC descrito neste documento (por

exemplo, em geral ou nas regiões de framework). Em algumas modalidades, o anticorpo compreende as mesmas sequências de CDR que DX-2930 e uma sequência de LC que é pelo menos 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, ou 100% idêntica a uma sequência de LC descrita neste documento (por exemplo, em geral ou nas regiões de framework). Em algumas modalidades, o anticorpo compreende as mesmas sequências de CDR que DX-2930 e uma sequência de HC que é pelo menos 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, ou 100% idêntica a uma sequência de HC descrita neste documento (por exemplo, em geral ou nas regiões de framework).

[0057] A proteína de ligação à calicreína plasmática pode ser um anticorpo isolado (por exemplo, pelo menos, 70, 80, 90, 95 ou 99% livre de outras proteínas). Em algumas modalidades, o anticorpo de ligação à calicreína plasmática, ou composição do mesmo, é isolado de fragmentos de clivagem de anticorpos (por exemplo, DX-2930), os quais são inativos ou parcialmente ativos (por exemplo, se ligam à calicreína plasmática com um $K_{i,app}$ de 5000 nM ou mais) em comparação ao anticorpo de ligação à calicreína plasmática. Por exemplo, o anticorpo de ligação à calicreína plasmática é pelo menos 70% livre de tais fragmentos de clivagem de anticorpos; em outras modalidades, o anticorpo de ligação é pelo menos 80%, pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 99% ou até mesmo 100% livre de fragmentos de clivagem de anticorpos que são inativos ou parcialmente ativos.

[0058] O anticorpo de ligação à calicreína plasmática adicionalmente pode inibir a calicreína plasmática, por exemplo, calicreína plasmática humana.

[0059] Em algumas modalidades, o anticorpo de ligação à calicreína plasmática não se liga à pré-calicreína (por exemplo, pré-calicreína humana e/ou pré-calicreína murina), mas se liga à forma ativa da

calicreína plasmática (por exemplo, calicreína plasmática humana e/ou calicreína murina).

[0060] Em certas modalidades, o anticorpo se liga em ou próximo ao sítio ativo do domínio catalítico da calicreína plasmática, ou um fragmento do mesmo, ou se liga a um epítopo que se sobrepõe ao sítio ativo da calicreína plasmática.

[0061] O anticorpo pode se ligar à calicreína plasmática, por exemplo, calicreína plasmática humana, com uma afinidade de ligação de pelo menos 10^5, 10^6, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10} e 10^{11} M^{-1}. Em uma modalidade, o anticorpo se liga à calicreína plasmática humana com uma K_{off} mais lenta do que 1×10^{-3}, 5×10^{-4} s^{-1} ou 1×10^{-4} s^{-1}. Em uma modalidade, o anticorpo se liga à calicreína plasmática humana com uma K_{on} mais rápida do que 1×10^2, 1×10^3 ou 5×10^3 $M^{-1}s^{-1}$. Em uma modalidade, o anticorpo se liga à calicreína plasmática, mas não se liga à calicreína tecidual e/ou à pré-calicreína plasmática (por exemplo, o anticorpo se liga à calicreína tecidual e/ou à pré-calicreína plasmática de maneira menos eficaz (por exemplo, 5-, 10-, 50-, 100-, ou 1000- vezes menos, ou não eficaz, por exemplo, em comparação com um controle negativo) do que se liga à calicreína plasmática).

[0062] Em uma modalidade, o anticorpo inibe a atividade da calicreína plasmática humana, por exemplo, com uma Ki menor do que 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, e 10^{-10} M. O anticorpo pode ter, por exemplo, uma IC_{50} menor do que 100 nM, 10 nM, 1, 0,5 ou 0,2 nM. Por exemplo, o anticorpo pode modular a atividade da calicreína plasmática, bem como a produção de Fator XIIa (por exemplo, a partir do Fator XII) e/ou de bradicinina (por exemplo, a partir de cininogênio de alto peso molecular (HMWK)). O anticorpo pode inibir a atividade da calicreína plasmática e/ou a produção de Fator XIIa (por exemplo, a partir do Fator XII) e/ou de bradicinina (por exemplo, a partir de cininogênio de alto peso molecular (HMWK)). A afinidade do anticorpo pela calicreína plasmática humana pode

ser caracterizada por uma K_D menor do que 100 nm, menor do que 10 nM, menor do que 5 nM, menor do que 1 nM, menor do que 0,5 nM. Em uma modalidade, o anticorpo inibe calicreína plasmática, mas não inibe a calicreína tecidual (por exemplo, o anticorpo inibe calicreína tecidual de maneira menos eficaz (por exemplo, 5-, 10-, 50-, 100-, ou 1000- vezes menos ou não eficaz, por exemplo, em comparação com um controle negativo) do que inibe calicreína plasmática).

[0063] Em algumas modalidades, o anticorpo tem uma constante de inibição aparente ($K_{i,app}$) menor do que 1000, 500, 100, 5, 1, 0,5 ou 0,2 nM.

[0064] Os anticorpos de ligação à calicreína plasmática podem ter suas sequências de domínio variável HC e LC inclusas em um único polipeptídeo (por exemplo, scFv), ou em polipeptídeos diferentes (por exemplo, IgG ou Fab).

[0065] Em uma modalidade, as sequências de domínio variável de HC e LC são componentes da mesma cadeia de polipeptídeo. Em outra, as sequências de domínio variável HC e LC são componentes de diferentes cadeias de polipeptídeos. Por exemplo, o anticorpo é uma IgG, por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4. O anticorpo pode ser um Fab solúvel. Em outras implementações, o anticorpo inclui um Fab2', scFv, minibody, fusão scFv:Fc, fusão Fab:HSA, fusão HSA:Fab, fusão Fab:HSA:Fab, ou outra molécula que compreende o sítio de combinação ao antígeno de uma das proteínas de ligação neste documento. As regiões VH e VL desses Fabs podem ser providas como IgG, Fab, Fab2, Fab2', scFv, Fab PEGuilado, scFv PEGuilado, Fab2 PEGuilado, VH:CH1:HSA+LC, HSA:VH:CH1+LC, LC:HSA + VH:CH1, HSA:LC + VH:CH1 ou outras construções apropriadas.

[0066] Em uma modalidade, o anticorpo é um anticorpo humano ou humanizado ou é não-imunogênico em um humano. Por exemplo, o anticorpo inclui uma ou mais regiões de framework de anticorpo humano,

por exemplo, todas as regiões de framework humanas, ou regiões de framework pelo menos 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% idênticas às regiões de framework humanas. Em uma modalidade, o anticorpo inclui um domínio Fc humano, ou um domínio Fc que é pelo menos 95, 96, 97, 98 ou 99% idêntico a um domínio Fc humano.

[0067] Em uma modalidade, o anticorpo é um anticorpo de primata ou primatizado ou é não-imunogênico em um humano. Por exemplo, o anticorpo inclui uma ou mais regiões de framework de anticorpo de primata, por exemplo, todas as regiões de framework de primata, ou regiões de framework pelo menos 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% idênticas às regiões de framework de primata. Em uma modalidade, o anticorpo inclui um domínio Fc de primata, ou um domínio Fc que é pelo menos 95, 96, 97, 98 ou 99% idêntico a um domínio Fc de primata. "Primata" inclui humanos (*Homo sapiens*), chimpanzés (*Pan troglodytes* e *Pan paniscus* (bonobos)), gorilas (*Gorilla gorilla*), gibões, macacos, lêmures, aie-aies (Daubentonia madagascariensis) e társios. Em algumas modalidades, a afinidade do anticorpo de primata por calicreína plasmática humana é caracterizada por uma K_D menor do que 1000, 500, 100, 10, 5, 1, 0,5 nM, por exemplo, menor do que 10 nM, menor do que 1 nM ou menor do que 0,5 nM.

[0068] Em certas modalidades, o anticorpo não inclui nenhuma sequência de camundongos ou coelhos (por exemplo, não é um anticorpo murino ou de coelho).

[0069] Em algumas modalidades, o anticorpo usado nos métodos descritos neste documento pode ser DX-2930 como descrito neste documento ou uma variante funcional do mesmo.

[0070] Em um exemplo, uma variante funcional de DX-2930 compreende as mesmas regiões determinantes de complementariedade (CDRs) que DX-2930. Em outro exemplo, as variantes funcionais de DX-2930 podem conter uma ou mais mutações (por exemplo, substituições

conservativas) nas FRs da V_H ou da V_L em comparação com aquelas na V_H e V_L de DX-2930. Preferencialmente, tais mutações não ocorrem em resíduos que se acredita que interajam com uma ou mais das CDRs, o que pode ser determinado por tecnologia de rotina. Em outras modalidades, as variantes funcionais descritas neste documento contêm uma ou mais mutações (por exemplo, 1, 2 ou 3) dentro de uma ou mais das regiões CDR de DX-2930. Preferencialmente, tais variantes funcionais mantêm as mesmas regiões/resíduos responsáveis por ligação ao antígeno que as precursoras. Em ainda outras modalidades, uma variante funcional de DX-2930 pode compreender uma cadeia V_H que compreende uma sequência de aminoácidos pelo menos 85% (por exemplo, 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99%) idêntica àquela da V_H de DX-2930 e/ou uma cadeia V_L que tem uma sequência de aminoácidos pelo menos 85% (por exemplo, 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99%) idêntica àquela da V_L de DX-2930. Essas variantes são capazes de se ligar à forma ativa da calicreína plasmática e, preferencialmente, não se ligam à pré-calicreína.

[0071] A "porcentagem de identidade" de duas sequências de aminoácidos é determinada usando o algoritmo de Karlin e Altschul *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 87:2264-68, 1990, modificada como em Karlin e Altschul *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 90:5873-77, 1993. Tal algoritmo é incorporado nos programas NBLAST e XBLAST (versão 2.0) de Altschul, *et. al. J. Mol. Biol.* 215:403-10, 1990. Pesquisas de proteína em BLAST podem ser realizadas com o programa XBLAST, pontuação = 50, comprimento de palavra = 3 para obter sequências de aminoácidos homólogas às moléculas de proteína de interesse. Onde existirem lacunas entre duas sequências, Gapped BLAST pode ser utilizado como descrito em Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res*. 25(17):3389-3402, 1997. Ao utilizar programas BLAST e Gapped BLAST, os parâmetros padrão dos respectivos programas (por exemplo, XBLAST e NBLAST) podem ser usados.

[0072] Em algumas modalidades, o anticorpo usado nos métodos e composições descritas neste documento pode ser o anticorpo DX-2930. As sequências variáveis e inteiras de cadeia leve ou pesada para DX-2930 são providas abaixo, com sequências sinal em itálico. As CDRs estão em negrito e sublinhadas.

[0073] Sequência de Aminoácidos da Cadeia Pesada de DX-2930 (451 aminoácidos, 49439,02 Da)

*MGWSCILFLVATATGAHS*EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**HYIMM**WVRQAPGKGLEWVS**GIYSSGGITVYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAY**RRIGVPRRDEFDI**WGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 1)

[0074] Sequência de Aminoácidos da Cadeia Leve de DX-2930 (213 aminoácidos, 23419,08 Da)

*MGWSCILFLVATATGAHS*DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC**RASQSISSWLA**WYQQKPGKAPKLLIY**KASTLES**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QQYNTYWT**FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 2)

[0075] Sequência de Aminoácidos do Domínio Variável da Cadeia Pesada de DX-2930

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**HYIMM**WVRQAPGKGLEWVS**GIYSSGGITVYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAY**RRIGVPRRDEFDI**WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 3)

[0076] Sequência de Aminoácidos do Domínio Variável da Cadeia Leve de DX-2930

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC**RASQSISSWLA**WYQQKPGKAPKL LIY**KASTLES**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QQYNTYWT**F GQGTKVEIK (SEQ ID NO: 4)

Tabela 1. CDRs para DX-2930.

CDR	Sequência de aminoácidos
CDR1 da cadeia pesada	HYIMM (SEQ ID NO: 5)
CDR2 da cadeia pesada	GIYSSGGITVYADSVKG (SEQ ID NO: 6)
CDR3 da cadeia pesada	RRIGVPRRDEFDI (SEQ ID NO: 7)
CDR1 da cadeia leve	RASQSISSWLA (SEQ ID NO: 8)
CDR2 da cadeia leve	KASTLES (SEQ ID NO: 9)
CDR3 da cadeia leve	QQYNTYWT (SEQ ID NO: 10)

Preparação do Anticorpo

[0077] Um anticorpo, conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) pode ser feito por qualquer método conhecido na técnica. Vide, por exemplo, Harlow e Lane, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York and Greenfield, (2013) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Second edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

[0078] A sequência que codifica o anticorpo de interesse, por exemplo, DX-2930, pode ser mantida em vetor em uma célula hospedeira e a célula hospedeira pode ser expandida e congelada para uso futuro. Em uma alternativa, a sequência polinucleotídica pode ser usada para manipulação genética para "humanizar" o anticorpo ou para melhorar a afinidade (maturação de afinidade), ou outras características do anticorpo. Por exemplo, a região constante pode ser arquitetada para se assemelhar mais a regiões constantes humanas para evitar a resposta imune, se o anticorpo for usado em ensaios clínicos e tratamentos em humanos. Pode ser desejável manipular geneticamente a sequência do anticorpo para obter

maior afinidade pelo antígeno alvo e maior eficácia na inibição da atividade de PKal. Será evidente para alguém versado na técnica que uma ou mais alterações polinucleotídicas podem ser feitas ao anticorpo e ainda manter sua especificidade de ligação ao antígeno alvo.

[0079] Em outras modalidades, anticorpos totalmente humanos podem ser obtidos usando camundongos comercialmente disponíveis que tenham sido arquitetados para proteínas de imunoglobulina humana específica expressa. Animais transgênicos que são projetados para produzir uma ou mais respostas imunes robustas mais desejáveis (por exemplo, anticorpos totalmente humanos), também podem ser usados para a geração de anticorpos humanos ou humanizados. Exemplos de tal tecnologia são Xenomouse^{RTM} da Amgen, Inc. (Fremont, Califórnia) e HuMAb-Mouse^{RTM} e TC Mouse^{TM} de Medarex, Inc. (Princeton, N.J.). Em outra alternativa, os anticorpos podem ser feitos de maneira recombinante por exibição de fagos ou tecnologia de levedura. Vide, por exemplo, as Patente dos EUA nº 5.565.332; 5.580.717; 5.733.743; e 6.265.150; e Winter et al., (1994) *Annu. Rev. Immunol.* 12:433-455. Alternativamente, a tecnologia de exibição de fagos (McCafferty et al. (1990) *Nature* 348:552-553) pode ser usada para produzir anticorpos humanos e fragmentos de anticorpos in vitro, a partir de repertórios de genes de domínio variável de imunoglobulina (V) de doadores não imunizados.

[0080] Os fragmentos de ligação ao antígeno de um anticorpo intacto (anticorpo completo) podem ser preparados por meio de métodos de rotina. Por exemplo, fragmentos $F(ab')_2$ podem ser produzidos por digestão por pepsina de uma molécula de anticorpo e fragmentos Fab que podem ser gerados através de redução das pontes dissulfeto de fragmentos $F(ab')_2$.

[0081] Anticorpos geneticamente arquitetados, tais como anticorpos humanizados, anticorpos quiméricos, anticorpos de cadeia simples e anticorpos biespecíficos, podem ser produzidos por meio de, por

exemplo, tecnologia recombinante convencional. Em um exemplo, DNA que codifica anticorpos monoclonais específicos para um antígeno alvo pode ser facilmente isolado ou sintetizado. O DNA pode ser colocado em um ou mais vetores de expressão, que são então transfectados em células hospedeiras, tais como células de *E. coli*, células COS de símios, células de ovário de hamister chinês (CHO) ou células de mieloma que não produzem proteína imunoglobulina de outra forma para obter a síntese de anticorpos monoclonais nas células hospedeiras recombinantes. Vide, por exemplo, a Publicação de PCT nº WO 87/04462. O DNA pode ser então modificado, por exemplo, pela substituição da sequência de codificação para domínios constantes das cadeias leve e pesada humanas no lugar das sequências homólogas murinas, Morrison et al, (1984) *Proc. Nat. Acad. Sci.* 81:6851, ou pela união covalente à sequência de codificação de imunoglobulina de toda ou parte da sequência de codificação para um polipeptídeo não imunoglobulina. Dessa maneira, anticorpos geneticamente arquitetados, tais como anticorpos "quiméricos" ou "híbridos", podem ser preparados os quais têm especificidade de ligação de um antígeno alvo.

[0082] As técnicas desenvolvidas para a produção de "anticorpos quiméricos" são bem conhecidas na técnica. Vide, por exemplo, Morrison et al. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 6851; Neuberger et al. (1984) *Nature* 312, 604; e Takeda et al. (1984) *Nature* 314:452.

[0083] Os métodos para a criação de anticorpos humanizados são também conhecidos na técnica. Vide, por exemplo, Queen et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:10029-10033 (1989). Em um exemplo, regiões variáveis de V_H e V_L de um anticorpo não humano precursor são submetidas à análise de modelagem molecular tridimensional seguindo métodos conhecidos na técnica. Em seguida, resíduos de aminoácidos de framework que se acredita serem importantes para a formação das estruturas de CDR corretas são identificados usando a mesma análise de modelagem molecular. Em paralelo, cadeias V_H e V_L humanas tendo

sequências de aminoácidos que são homólogas àquelas do anticorpo não humano precursor são identificadas a partir de qualquer banco de dados de genes de anticorpos usando as sequências de V_H e V_L precursoras como entradas de pesquisa. Genes aceptores de V_H e V_L humanas são então selecionados.

[0084] As regiões CDR dentro dos genes aceptores humanos selecionados podem ser substituídos com as regiões CDR a partir do anticorpo não humano precursor ou variantes funcionais do mesmo. Quando necessário, resíduos dentro das regiões de framework da cadeia precursora que se acredita serem importantes na interação com as regiões CDR (vide descrição acima) podem ser usados para substituir os resíduos correspondentes nos genes aceptores humanos.

[0085] Um anticorpo de cadeia simples pode ser preparado por meio da tecnologia recombinante ao vincular uma codificação de sequência de nucleotídeos para uma região variável da cadeia pesada e uma codificação de sequência de nucleotídeos para uma região variável de cadeia leve. Preferencialmente, um vinculador flexível é incorporado entre as duas regiões variáveis. Alternativamente, técnicas descritas para a produção de anticorpos de cadeia simples (Patentes dos EUA nº 4.946.778 e 4.704.692) podem ser adaptadas para produzir uma biblioteca de scFv de fagos ou leveduras e clones de scFv específicos para uma PKal podem ser identificados a partir da biblioteca seguindo procedimentos de rotina. Clones positivos podem ser submetidos a triagem adicional para identificar aqueles que inibem a atividade de PKal.

[0086] Alguns anticorpos, por exemplo, Fabs, podem ser produzidos em células bacterianas, por exemplo, células de *E. coli* (vide, por exemplo, Nadkarni A. et al., 2007 *Protein Expr Purif* 52(1):219-29). Por exemplo, se o Fab for codificado por sequências em um vetor de exibição de fagos que inclui um códon de terminação suprimível entre a entidade de exibição e uma proteína de bacteriófago (ou fragmento da mesma), o ácido

nucleico vetor poderá ser transferido para uma célula bacteriana que não pode suprimir um códon de terminação. Nesse caso, o Fab não é fundido à proteína gene III e é secretado no periplasma e/ou no meio.

[0087] Anticorpos também podem ser produzidos em células eucarióticas. Em uma modalidade, os anticorpos (por exemplo, scFvs) são expressos em uma célula de levedura, tal como *Pichia* (vide, por exemplo, Powers et al., 2001, *J. Immunol. Methods.* 251:123-35; Schoonooghe S. et al., 2009 *BMC Biotechnol.* 9:70; Abdel-Salam, HA. *et al.*, 2001 *Appl Microbiol Biotechnol* 56(1-2):157-64; Takahashi K. et al., 2000 *Biosci Biotechnol Biochem* 64(10):2138-44; Edqvist, J. et al., 1991 *J Biotechnol* 20(3):291-300), *Hanseula*, ou *Saccharomyces*. Alguém versado na técnica poderá otimizar a produção de anticorpos em leveduras pela otimização, por exemplo, das condições de oxigênio (vide por exemplo, Baumann K., et al. 2010 *BMC Syst. Biol.* 4:141), osmolaridade (vide por exemplo, Dragosits, M. et al., 2010 *BMC Genomics* 11:207), temperatura (vide por exemplo, Dragosits, M. et al., 2009 *J Proteome Res.* 8(3):1380-92), condições de fermentação (vide por exemplo, Ning, D. et al. 2005 *J. Biochem. and Mol. Biol.* 38(3): 294-299), estirpe da levedura (vide por exemplo, Kozyr, AV et al. 2004 *Mol Biol* (Mosk) 38(6):1067-75; Horwitz, AH. et al., 1988 *Proc Natl Acad Sci EUA*85(22):8678-82; Bowdish, K. et al. 1991 *J Biol Chem* 266(18):11901-8), superexpressão de proteínas para intensificar a produção de anticorpos (vide por exemplo, Gasser, B. et al., 2006 *Biotechol. Bioeng.*94(2):353-61), nível de acidez da cultura (vide por exemplo, Kobayashi H., et al., 1997 *FEMSMicrobiol Lett* 152(2):235-42), concentrações de substratos e/ou íons (vide por exemplo, Ko JH. et al., 2996 *Appl Biochem Biotechnol* 60(1):41-8). Além disso, sistemas de levedura podem ser usados para produzir anticorpos com uma meia-vida prolongada (vide, por exemplo, Smith, BJ. et al. 2001 *Bioconjug Chem* 12(5):750-756).

[0088] Em uma modalidade preferencial, os anticorpos são produzidos em células de mamíferos. Células hospedeiras de mamíferos preferenciais para expressar os anticorpos clonais ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos incluem Ovário de Hamster Chinês (células CHO) (incluindo células CHO dhfr-, descritas em Urlaub e Chasin, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 77:4216-4220, usadas com um marcador selecionável DHFR, por exemplo, como descrito em Kaufman e Sharp, 1982, *Mol. Biol*. 159:601 621), linhagens celulares linfocíticas, por exemplo, células de mieloma NS0 e células SP2, células COS, células HEK293T (*J. Immunol. Methods* (2004) 289(1-2):65-80), e uma célula de um animal transgênico, por exemplo, um mamífero transgênico. Por exemplo, a célula é uma célula epitelial de mamífero.

[0089] Em algumas modalidades, anticorpos de ligação à calicreína plasmática são produzidos em um vegetal ou um sistema com base livre de células (vide, por exemplo, Galeffi, P., et al., 2006 *J Transl Med* 4:39).

[0090] Adicionalmente à sequência de ácidos nucleicos que codifica o domínio de imunoglobulina diversificado, os vetores de expressão recombinantes podem possuir sequências adicionais, tais como sequências que regulam a replicação do vetor em células hospedeiras (por exemplo, origens de replicação) e genes marcadores selecionáveis. O gene marcador selecionável facilita a seleção de células hospedeiras nas quais o vetor tenha sido introduzido (vide, por exemplo, Patente dos EUA nº 4.399.216, 4.634.665 e 5.179.017). Por exemplo, tipicamente o gene marcador selecionável confere resistência as drogas, tais como G418, higromicina ou metotrexato, em uma célula hospedeira na qual o vetor foi introduzido. Genes marcadores selecionáveis preferenciais incluem o gene da di-hidrofolato redutase (DHFR), (para uso em células hospedeiras *dhfr*- com seleção/amplificação de metotrexato) e o gene *neo* (para a seleção de G418).

[0091] Em um exemplo de sistema para expressão recombinante de um anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, um vetor de expressão recombinante que codifica tanto a cadeia pesada do anticorpo quanto a cadeia leve do anticorpo é introduzido em células CHO *dhfr*$^-$ por transfecção mediada por fosfato de cálcio. Dentro do vetor de expressão recombinante, os genes das cadeias leve e pesada do anticorpo são, cada um, operacionalmente vinculados a elementos regulatórios intensificadores/promotores (por exemplo, derivados de SV40, CMV, adenovírus e semelhantes, tais como um elemento regulatório promotor de AdMLP/intensificador de CMV ou um elemento regulatório promotor de AdMLP/intensificador de SV40) para conduzir a níveis elevados de transcrição dos genes. O vetor de expressão recombinante também leva um gene de DHFR, o qual permite a seleção de células CHO que foram transfectadas com o vetor usando seleção/amplificação por metotrexato. As células hospedeiras transformantes selecionadas são cultivadas para permitir a expressão das cadeias leve e pesada do anticorpo e anticorpo intacto é recuperado do meio de cultura. Técnicas padrão de biologia molecular são usadas para preparar o vetor de expressão recombinante, transfectar as células hospedeiras, selecionar transformantes, cultivar as células hospedeiras e recuperar o anticorpo do meio de cultura. Por exemplo, alguns anticorpos podem ser isolados por cromatografia de afinidade com uma matriz acoplada a Proteína A ou Proteína G.

[0092] Para anticorpos que incluem um domínio Fc, o sistema de produção de anticorpo pode produzir anticorpos em que a região Fc é glicosilada. Por exemplo, o domínio Fc de moléculas de IgG é glicosilado na asparagina 297 no domínio CH2. Essa asparagina é o sítio para modificação com oligossacarídeos do tipo biantenários. Foi demonstrado que essa glicosilação é exigida para funções efetoras mediadas por receptores de γFc e complemento C1q (Burton e Woof, 1992, *Adv.*

Immunol. 51:1-84; Jefferis et al., 1998, *Immunol. Rev.* 163:59-76). Em uma modalidade, o domínio Fc é produzido em um sistema de expressão de mamífero que glicosila apropriadamente o resíduo correspondente à asparagina 297. O domínio Fc também pode incluir outras modificações pós-translacionais eucarióticas.

[0093] Os anticorpos também podem ser produzidos por um animal transgênico. Por exemplo, a Patente dos EUA nº 5.849.992 descreve um método para expressar um anticorpo na glândula mamária de um mamífero transgênico. Um transgene é construído incluindo um promotor específico para leite e ácidos nucleicos que codificam o anticorpo de interesse e uma sequência sinal para a secreção. O leite produzido pelas fêmeas de tais mamíferos transgênicos inclui, secretado nele, o anticorpo de interesse. O anticorpo pode ser purificado a partir do leite ou, para algumas aplicações, usado diretamente.

Composições Farmacêuticas

[0094] Um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) pode estar presente em uma composição, por exemplo, uma composição farmaceuticamente aceitável ou composição farmacêutica. O anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) pode ser formulado em conjunto com um carreador farmaceuticamente aceitável. Em algumas modalidades, 150 mg ou 300 mg do anticorpo DX-2930 estão presentes em uma composição, opcionalmente com um carreador farmaceuticamente aceitável, por exemplo, uma composição farmaceuticamente aceitável ou composição farmacêutica.

[0095] Um carreador farmaceuticamente aceitável inclui todos e quaisquer solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes antibacterianos e antifúngicos, agentes de retardamento de absorção e isotônico e similares que são fisiologicamente compatíveis. Preferencialmente, o carreador é adequado para administração subcutânea, intravenosa, intramuscular, parenteral, espinhal ou epidérmica

(por exemplo, por injeção ou infusão), embora carreadores adequados para inalação e administração intranasal também sejam contemplados.

[0096] O carreador farmaceuticamente aceitável na composição farmacêutica descrito neste documento pode incluir um ou mais dentre um agente tamponante, um aminoácido, e um modificador de tonicidade. Qualquer agente tamponante adequado ou combinação de agentes tamponantes pode ser usado na composição farmacêutica descrita neste documento para manter ou auxiliar na manutenção de um pH apropriado da composição. Exemplos não limitantes de agentes tamponantes incluem fosfato de sódio, fosfato de potássio, ácido cítrico, succinato de sódio, histidina, Tris e acetato de sódio. Em algumas modalidades, os agentes tamponantes podem estar em uma concentração de cerca de 5 a100 mM, 5 a 50 mM, 10 a 50 mM, 15 a 50 mM ou cerca de 15 a 40 mM. Por exemplo, o um ou mais agentes tamponantes podem estar em uma concentração de cerca de 15 mM, 16 mM, 17 mM, 18 mM, 19 mM, 20 mM, 21 mM, 22 mM, 23 mM, 24 mM, 25 mM, 26 mM, 27 mM, 28 mM, 29 mM, 30 mM, 31 mM, 32 mM, 33 mM, 35 mM, 36 mM, 37 mM, 38 mM, 39 mM ou 40 mM. Em alguns exemplos, o carreador farmaceuticamente aceitável compreende fosfato de sódio e ácido cítrico, os quais podem estar em uma concentração de cerca de 30 mM e 19 mM, respectivamente.

[0097] Em algumas modalidades, o carreador farmaceuticamente aceitável inclui um ou mais aminoácidos, os quais podem diminuir a agregação do anticorpo e/ou aumentar a estabilidade do anticorpo durante o armazenamento antes da administração. Exemplos de aminoácidos para uso na fabricação das composições farmacêuticas descritas neste documento incluem, mas não estão limitados à alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, glicina, histidina, lisina, prolina ou serina. Em alguns exemplos, a concentração do aminoácido na composição farmacêutica pode ser de cerca de 5 a 100 mM, 10 a 90 mM, 20 a 80 mM, 30 a 70 mM, 40 a 60 mM ou cerca de 45 a 55 mM. Em alguns exemplos, a

concentração do aminoácido (por exemplo, histidina) pode ser de cerca de 40 mM, 41 mM, 42 mM, 43 mM, 44 mM, 45 mM, 46 mM, 47 mM, 48 mM, 49 mM, 50 mM, 51 mM, 52 mM, 53 mM, 54 mM, 55 mM, 56 mM, 57 mM, 58 mM, 59 mM ou cerca de 60 mM. Em um exemplo, a composição farmacêutica contém histidina em uma concentração de cerca de 50 mM.

[0098] Qualquer modificador de tonicidade adequado pode ser usado para preparar as composições farmacêuticas descritas neste documento. Em algumas modalidades, o modificador de tonicidade é um sal ou um aminoácido. Exemplos de sais adequados incluem, sem limitação, cloreto de sódio, succinato de sódio, sulfato de sódio, cloreto de potássio, cloreto de magnésio, sulfato de magnésio e cloreto de cálcio. Em algumas modalidades, o modificador de tonicidade na composição farmacêutica, pode estar em uma concentração de cerca de 10 a 150 mM, 50 a 150 mM, 50 a 100 mM, 75 a 100 mM ou cerca de 85 a 95 mM. Em algumas modalidades, o modificador de tonicidade pode estar em uma concentração de cerca de 80 mM, 81 mM, 82 mM, 83 mM, 84 mM, 85 mM, 86 mM, 87 mM, 88 mM, 89 mM, 90 mM, 91 mM, 92 mM, 93 mM, 94 mM, 95 mM, 96 mM, 97 mM, 98 mM, 99 mM ou cerca de 100 mM. Em um exemplo, o modificador de tonicidade pode ser cloreto de sódio, o qual pode estar em uma concentração de cerca de 90 mM.

[0099] O carreador farmaceuticamente aceitável nas composições farmacêuticas descritas neste documento pode compreender adicionalmente um ou mais excipientes farmaceuticamente aceitáveis. Em geral, excipientes farmaceuticamente aceitáveis são substâncias farmacologicamente inativas. Exemplos não limitantes de excipientes incluem lactose, glicerol, xilitol, sorbitol, manitol, maltose, inositol, trealose, glicose, albumina de soro bovino (BSA), dextrana, acetato de polivinila (PVA), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), polietilenoimina (PEI), gelatina, polivinilpirrolidona (PVP), hidroxietilcelulose (HEC), polietilenoglicol (PEG), etilenoglicol, glicerol, dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF),

monolaurato de polioxietileno sorbitano (Tween-20), mono-oleato de polioxietileno sorbitano (Tween-80), dodecil sulfato de sódio (SDS), polissorbato, copolímero de polioxietileno, fosfato de potássio, acetato de sódio, sulfato de amônio, sulfato de magnésio, sulfato de sódio, N-óxido de trimetilamina, betaína, íons zinco, íons cobre, íons cálcio, íons manganês, íons magnésio, CHAPS, monolaurato de sacarose e 2-O-beta-manoglicerato. Em algumas modalidades, o carreador farmaceuticamente aceitável compreende um excipiente entre cerca de 0,001% a 0,1%, 0,001% a 0,05%, 0,005 a 0,1%, 0,005% a 0,05%, 0,008% a 0,05%, 0,008% a 0,03% ou cerca de 0,009% a 0,02%. Em algumas modalidades, o excipiente está a cerca de 0,005%, 0,006%, 0,007%, 0,008%, 0,009%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09% ou cerca de 0,1%. Em algumas modalidades, o excipiente é mono-oleato de polioxietileno sorbitano (Tween-80). Em um exemplo, o carreador farmaceuticamente aceitável contém Tween-80 a 0,01%.

[00100] Em alguns exemplos, a composição farmacêutica descrita neste documento compreende o anticorpo anti-pKal como também descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) e um ou mais dentre fosfato de sódio (por exemplo, fosfato de sódio dibásico di-hidratado), ácido cítrico (por exemplo, ácido cítrico monoidratado), histidina (por exemplo, L-histidina), cloreto de sódio, e Polissorbato 80. Por exemplo, a composição farmacêutica pode compreender o anticorpo, fosfato de sódio, ácido cítrico, histidina, cloreto de sódio e Polissorbato 80. Em alguns exemplos, o anticorpo é formulado com fosfato de sódio a cerca de 30 mM, ácido cítrico a cerca de 19 mM, histidina a cerca de 50 mM, cloreto de sódio a cerca de 90 mM e Polissorbato 80 a cerca de 0,01%. A concentração do anticorpo (por exemplo, DX-2930) na composição pode ser de cerca de 150 mg/mL ou 300 mg/mL. Em um exemplo, a composição compreende ou consiste em DX-2930 a cerca de 150 mg por 1 mL de solução, fosfato de sódio dibásico di-hidratado a cerca de 30 mM, ácido cítrico mono-hidratado a cerca de 19

mM (por exemplo, 19,6 mM), L-histidina a cerca de 50 mM, cloreto de sódio a cerca de 90 mM e Polissorbato 80 a cerca de 0,01%. Em outro exemplo, a composição compreende ou consiste em DX-2930 a cerca de 300 mg por 1 mL de solução, fosfato de sódio dibásico di-hidratado a cerca de 30 mM, ácido cítrico mono-hidratado a cerca de 19 mM (por exemplo, 19,6 mM), L-histidina a cerca de 50 mM, cloreto de sódio a cerca de 90 mM e Polissorbato 80 a cerca de 0,01%.

[00101] Um sal farmaceuticamente aceitável é um sal que mantém a atividade biológica desejada do composto e não transmite quaisquer efeitos toxicológicos indesejáveis (vide, por exemplo, Berge, S.M., et al., 1977, J. *Pharm. Sci.* 66:1-19). Exemplos de tais sais incluem sais de adição ácidos e sais de adição básicos. Sais de adição ácidos incluem aqueles derivados de ácidos inorgânicos atóxicos, tais como os ácidos clorídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, bromídrico, iodídrico, fosforoso e similares, bem como de ácidos orgânicos atóxicos, tais como ácidos alifáticos e mono e dicarboxílicos, ácidos alcanoicos substituídos com fenila, ácidos hidroxialcanoicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfônicos aromáticos e alifáticos e similares. Sais de adição básicos incluem aqueles derivados de metais alcalinos terrosos, tais como sódio, potássio, magnésio, cálcio e similares, bem como de aminas orgânicas atóxicas, tais como N,N'-dibenziletilenodiamina, N-metilglucamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilenodiamina, procaína e similares.

[00102] As composições podem ser em uma variedade de formas. Estas incluem, por exemplo, formas de dosagem líquidas, semissólidas e sólidas, tais como soluções líquidas (por exemplo, soluções injetáveis e infusíveis), dispersões ou suspensões, comprimidos, pílulas, pós, lipossomas e supositórios. A forma pode depender do modo de administração e aplicação terapêutica desejados. Muitas composições estão na forma de soluções injetáveis ou infusíveis, tais como composições semelhantes àquelas usadas para a administração de anticorpos a

humanos. Um exemplo de modo de administração é a parenteral (por exemplo, por via intravenosa, subcutânea, intraperitoneal, intramuscular). Em uma modalidade, a proteína de ligação à calicreína plasmática é administrada por infusão ou injeção intravenosa. Em outra modalidade, a proteína de ligação à calicreína plasmática é administrada por injeção intramuscular. Em outra modalidade, a proteína de ligação à calicreína plasmática é administrada por injeção subcutânea. Em outra modalidade preferencial, a proteína de ligação à calicreína plasmática é administrada por injeção intraperitoneal.

[00103] As frases "administração parenteral" e "administradas por via parentérica" conforme usadas neste documento significam modos de administração diferentes da administração enteral e tópica, geralmente por injeção e incluem, sem limitação, injeção intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intratecal, intracapsular intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutânea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnóide, intraespinhal, epidural e intrasternal e infusão. Em algumas modalidades, o anticorpo é administrado por via subcutânea.

[00104] A composição pode ser formulada como uma solução, microemulsão, dispersão, em lipossomas ou outra estrutura ordenada adequada para uma concentração de droga alta. Soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas pela incorporação da proteína de ligação na quantidade exigida em um solvente apropriado com um ou uma combinação de ingredientes enumerados acima, conforme exigido, seguido de esterilização por filtração. Geralmente, as dispersões são preparadas pela incorporação do composto ativo em um veículo estéril que contém um meio de dispersão básico e os outros ingredientes exigidos dentre aqueles enumerados acima. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos preferenciais de preparação são secagem a vácuo e liofilização, que produz um pó do ingrediente ativo mais qualquer ingrediente adicional desejado a partir de uma solução

previamente filtrada de forma estéril do mesmo. A fluidez apropriada de uma solução pode ser mantida, por exemplo, pelo uso de um revestimento, tal como lecitina, pela manutenção do tamanho de partícula exigido no caso de dispersão e pelo uso de surfactantes. A absorção prolongada de composições injetáveis pode ser originada pela inclusão, na composição, de um agente que retarda a absorção, por exemplo, sais monoestearato e gelatina.

[00105] Um anticorpo, conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) pode ser administrado por uma variedade de métodos, incluindo a injeção intravenosa, injeção subcutânea ou infusão. Por exemplo, para algumas aplicações terapêuticas, o anticorpo pode ser administrado por infusão intravenosa a uma taxa menor do que 30, 20, 10, 5 ou 1 mg/min para alcançar uma dose de cerca de 1 a 100 mg/m^2 ou 7 a 25 mg/m^2. A rota e/ou o modo de administração irá(ão) variar dependendo dos resultados desejados. Em certas modalidades, o composto ativo pode ser preparado com um carreador que irá proteger o composto contra a liberação rápida, tal como uma formulação de liberação controlada, incluindo implantes e sistemas de entrega microencapsulados. Podem ser usados polímeros biodegradáveis, biocompatíveis, tais como acetato de vinil etileno, polianidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres e ácido polilático. Muitos métodos para a preparação de tais formulações estão disponíveis. Vide, por exemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., 1978, Marcel Dekker, Inc., Nova Iorque.

[00106] Composições farmacêuticas podem ser administradas com dispositivos médicos. Por exemplo, em uma modalidade, uma composição farmacêutica divulgada neste documento pode ser administrada com um dispositivo, por exemplo, um dispositivo de injeção hipodérmica sem agulha, uma bomba ou implante.

[00107] Em certas modalidades, um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) pode ser formulado para garantir distribuição apropriada *in vivo*. Por exemplo, a barreira hematoencefálica (BBB) exclui muitos compostos altamente hidrofílicos. Para assegurar que os compostos terapêuticos divulgados neste documento cruzem a BBB (se desejado), eles podem ser formulados, por exemplo, em lipossomas. Para métodos de fabricação de lipossomas, vide, por exemplo, as Patente dos EUA nº 4.522.811; 5.374.548; e 5.399.331. Os lipossomas podem compreender uma ou mais frações que são seletivamente transportadas para células ou órgãos específicos e, deste modo, intensificar a entrega de drogas visadas (vide, por exemplo, V.V. Ranade, 1989, *J. Clin. Pharmacol.*29:685).

[00108] Os regimes de dosagem são ajustados para prover a resposta desejada ideal (por exemplo, uma resposta terapêutica). Por exemplo, pode ser administrado um único bolus, várias doses divididas podem ser administradas ao longo do tempo, ou a dose pode ser proporcionalmente reduzida ou aumentada como indicado pelas exigências da situação terapêutica. É especialmente vantajoso formular composições parenterais em forma unitária de dosagem para facilitar a administração e a uniformidade da dosagem. Forma unitária de dosagem, conforme usado neste documento, se refere as unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias para os indivíduos a serem tratados; cada unidade contém uma quantidade predeterminada de composto ativo, calculada para produzir o efeito terapêutico desejado, em associação com o carreador farmacêutico exigido. O relatório descritivo para as formas unitárias de dosagem pode ser ditado por e diretamente dependente (a) das características únicas do composto ativo e do efeito terapêutico em particular a ser atingido, e (b) das limitações inerentes na técnica em se compor tal composto ativo para o tratamento da sensibilidade em pessoas.

[00109] Um exemplo não limitante de variação para uma quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz de um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) é de cerca de 150 mg ou 300 mg. Como será compreendido por uma pessoa com competência comum na técnica, uma quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz de um anticorpo pode ser menor para um indivíduo pediátrico do que para um indivíduo adulto. Em algumas modalidades, a quantidade eficaz que é administrada a um indivíduo pediátrico é uma dose fixa ou uma dose com base no peso. Em algumas modalidades, uma quantidade eficaz que é menor do que cerca de 150 mg ou 300 mg é administrada a um indivíduo pediátrico. Em algumas modalidades, uma quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz de um anticorpo é administrada a cada duas semanas ou a cada quatro semanas durante o primeiro período de tratamento. Em algumas modalidades, o anticorpo pode ser administrado ao indivíduo durante um segundo período de tratamento. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo no primeiro período de tratamento é diferente da quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo no segundo período de tratamento. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo no primeiro período de tratamento é de 150 mg e a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo no segundo período de tratamento é de 300 mg. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo no primeiro período de tratamento é igual à quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo no segundo período de tratamento. Em um exemplo, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo no primeiro período de tratamento e no segundo período de tratamento é de 300 mg.

[00110] Em algumas modalidades, um exemplo não limitante de variação para uma quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz de um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) é de

cerca de 300 mg. Em algumas modalidades, uma quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz de um anticorpo é administrada em uma dose única. Se o indivíduo sofre um ataque de HAE, o anticorpo poderá ser administrado adicionalmente ao indivíduo em doses múltiplas, tais como em doses de cerca de 300 mg administradas a cada duas semanas.

Kits

[00111] Um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) pode ser provido em um kit, por exemplo, como um componente de um kit. Por exemplo, o kit inclui (a) um anticorpo DX-2930, por exemplo, uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) que inclui o anticorpo e, opcionalmente, (b) material informativo. O material informativo pode ser descritivo, instrucional, de marketing ou outro material que se refere a um método descrito neste documento e/ou ao uso de um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930), por exemplo, para um método descrito neste documento. Em algumas modalidades, o kit compreende uma ou mais doses de DX-2930. Em algumas modalidades, a uma ou mais doses são de 150 mg ou 300 mg.

[00112] O material informativo do kit não é limitado em sua forma. Em uma modalidade, o material informativo pode incluir informações sobre a produção do composto, peso molecular do composto, concentração, data de validade, lote ou informações sobre o sítio de produção e assim por diante. Em uma modalidade, o material informativo se refere ao uso do anticorpo para tratar, prevenir ou diagnosticar distúrbios e condições, por exemplo, uma doença ou condição associada à calicreína plasmática.

[00113] Em uma modalidade, o material informativo pode incluir instruções para administrar um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) de uma maneira adequada para realizar os métodos descritos neste documento, por exemplo, em uma dose, forma de dosagem, modo de administração ou cronograma de

dosagem adequado (por exemplo, uma dose, forma de dosagem, cronograma de dosagem ou modo de administração descrito neste documento). Em outra modalidade, o material informativo pode incluir instruções para administrar um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) a um indivíduo adequado, por exemplo, um humano, por exemplo, um humano tendo ou em risco de uma doença ou condição associada à calicreína plasmática. Por exemplo, o material pode incluir instruções para administrar um anticorpo conforme descrito neste documento, (por exemplo, DX-2930) a um paciente com um distúrbio ou condição descrita neste documento, por exemplo, uma doença associada à calicreína plasmática, por exemplo, de acordo com um cronograma de dosagem descrito neste documento. O material informativo dos kits não é limitado em sua forma. Em muitos casos, o material informativo, por exemplo, instruções, é provido em versão impressa, mas também pode estar em outros formatos, tais como material legível por computador.

[00114] Um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) pode ser provido de qualquer forma, por exemplo, forma líquida, seca ou liofilizada. É preferencial que um anticorpo seja substancialmente puro e/ou estéril. Quando um anticorpo é provido em uma solução líquida, a solução líquida é preferencialmente uma solução aquosa, com uma solução aquosa estéril sendo preferencial. Quando um anticorpo é provido como uma forma seca, a reconstituição é geralmente feita pela adição de um solvente adequado. O solvente, por exemplo, tampão ou água estéril, pode opcionalmente ser provido no kit.

[00115] O kit pode incluir um ou mais recipientes para a composição contendo um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930). Em algumas modalidades, o kit contém recipientes separados, divisórias ou compartimentos para a composição e material informativo. Por exemplo, a composição pode ser contida em uma garrafa,

frasco ou seringa e o material informativo pode estar contido em associação com o recipiente. Em outras modalidades, os elementos separados do kit são contidos dentro de um recipiente único indivisível. Por exemplo, a composição é contida em uma garrafa, frasco ou seringa que tenha o material informativo fixado no mesmo na forma de um rótulo. Em algumas modalidades, o kit inclui uma pluralidade (por exemplo, um conjunto) de recipientes individuais, cada um contendo uma ou mais formas unitárias de dosagem (por exemplo, uma forma de dosagem descrita neste documento) de um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930). Por exemplo, o kit inclui uma pluralidade de seringas, ampolas, pacotes de lâminas ou pacotes de blísteres, cada um contendo uma única dose unitária de um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930). Os recipientes dos kits podem ser herméticos, à prova d'água (por exemplo, impermeáveis às mudanças na umidade ou evaporação), e/ou à prova de luz.

[00116] O kit inclui opcionalmente um dispositivo adequado para administração da composição, por exemplo, uma seringa ou qualquer dispositivo de entrega desse tipo. Em uma modalidade, o dispositivo é um dispositivo implantável que dispensa doses calculadas do anticorpo. A divulgação também apresenta um método para prover um kit, por exemplo, pela combinação de componentes descritos neste documento.

Tratamento

[00117] Em alguns aspectos, a divulgação provê o uso de um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) no tratamento de HAE.

(i) Angioedema hereditário

[00118] Angioedema hereditário (HAE) também é conhecido como "edema de Quincke," deficiência de inibidor de esterase C1, deficiência de inibidor C1 e edema angioneurótico hereditário (HANE). HAE é caracterizado por ataques recorrentes imprevisíveis de inchaço

subcutâneo ou submucoso grave (angioedema), que pode afetar, por exemplo, os membros, face, órgãos genitais, trato gastrointestinal e vias respiratórias (Zuraw, 2008). Os sintomas de HAE incluem, por exemplo, inchaço nos braços, pernas, lábios, olhos, língua e/ou garganta; obstrução das vias aéreas que pode envolver inchaço da garganta (laringe), rouquidão repentina e/ou causar morte por asfixia (Bork et al., 2012; Bork et al., 2000). Aproximadamente 50% de todos os pacientes com HAE sofrerão um ataque laríngeo em sua vida, e não há nenhuma maneira de prever quais pacientes têm risco de um ataque laríngeo (Bork et al., 2003; Bork et al., 2006). Os sintomas de HAE também incluem episódios repetidos de cólicas abdominais sem causa óbvia; e/ou inchaço dos intestinos, que podem ser graves e podem levar a cólica abdominal, vômito, desidratação, diarreia, dor, choque, e/ou sintomas intestinais que se assemelham a emergências abdominais, as quais podem levar a cirurgias desnecessárias (Zuraw, 2008). O inchaço pode durar até cinco ou mais dias. Cerca de um terço das pessoas com esse HAE desenvolvem uma dermatite que não coça chamada eritema marginatum durante um ataque. A maioria dos pacientes sofre vários ataques por ano.

[00119] O HAE é um distúrbio órfão cuja prevalência exata é desconhecida, mas estimativas atuais variam de 1 a cada 10.000 até 1 a cada 150.000 pessoas, com muitos autores concordando que 1 a cada 50.000 é provavelmente a estimativa mais próxima (Bygum, 2009; Goring et al., 1998; Lei et al., 2011; Nordenfelt et al., 2014; Roche et al., 2005).

[00120] A calicreína plasmática desempenha um papel fundamental na patogênese dos ataques de HAE (Davis, 2006; Kaplan e Joseph, 2010). Na fisiologia normal, o C1-INH regula a atividade da calicreína plasmática, bem como de uma variedade de outras proteases, tais como C1r, C1s, fator XIa e fator XIIa. A calicreína plasmática regula a liberação de bradicinina a partir de cininogênio de alto peso molecular (HMWK). Devido a uma deficiência de C1-INH no HAE, ocorre atividade

descontrolada da calicreína plasmática e leva a uma geração excessiva de bradicinina. A bradicinina é um vasodilatador que se acredita ser responsável pelos sintomas característicos de HAE de inchaço localizado, inflamação e dor (Craig et al., 2012; Zuraw et al., 2013).

[00121] O inchaço das vias aéreas pode ser fatal e causa a morte em alguns pacientes. Taxas de mortalidade são estimadas em 15 a 33%. O HAE leva a cerca de 15.000 a 30.000 visitas ao pronto socorro por ano.

[00122] O trauma ou estresse, por exemplo, procedimentos odontológicos, enfermidade (por exemplo, doenças virais tais como resfriados e gripe), menstruação e cirurgia podem desencadear um ataque de angioedema. Para prevenir ataques agudos de HAE, os pacientes podem tentar evitar estímulos específicos que causaram ataques anteriormente. Entretanto, em muitos casos, um ataque ocorre sem um gatilho conhecido. Normalmente, os sintomas de HAE aparecem primeiramente na infância e pioram durante a puberdade. Em média, as pessoas não tratadas têm um ataque a cada 1 a 2 semanas, e a maioria dos episódios dura cerca de 3 a 4 dias (ghr.nlm.nih.gov/condition/hereditary-angioedema). A frequência e a duração dos ataques variam muito entre as pessoas com angioedema hereditário, até mesmo entre pessoas da mesma família.

[00123] Existem três tipos de HAE, conhecido como tipos I, II e III, todos os quais podem ser tratados pelos métodos descritos neste documento. Estima-se que o HAE afeta 1 a cada 50.000 pessoas, que o tipo I é responsável por cerca de 85 por cento dos casos, o tipo II é responsável por cerca de 15 por cento dos casos e o tipo III é muito raro. O tipo III é a forma mais recentemente descrita e originalmente acreditou-se que ocorria somente em mulheres, mas famílias com homens afetados foram identificadas.

[00124] O HAE é herdado em um padrão autossômico dominante, de tal modo que uma pessoa afetada pode herdar a mutação de

um pai ou mãe afetado. Novas mutações no gene também podem ocorrer e, deste modo, o HAE também pode ocorrer em pessoas sem histórico do distúrbio em sua família. Estima-se que 20 a 25% dos casos resultem de uma nova mutação espontânea.

[00125] As mutações no gene SERPING1 causam angioedema hereditário tipo I e tipo II. O gene SERPING1 provê instruções para fazer a proteína inibidora de C1, que é importante para controlar a inflamação. O inibidor de C1 bloqueia a atividade de certas proteínas que promovem a inflamação. As mutações que causam angioedema hereditário tipo I levam a níveis reduzidos de inibidor de C1 no sangue. Em contraste, as mutações que causam o tipo II resultam na produção de um inibidor de C1 que funciona de maneira anormal. Aproximadamente 85% dos pacientes têm o HAE tipo I, caracterizado pela produção muito baixa da proteína C1-INH funcionalmente normal, ao passo que os aproximadamente 15% restantes dos pacientes têm o HAE tipo II e produzem níveis normais ou elevados de um C1-INH funcionalmente danificado (Zuraw, 2008). Sem os níveis apropriados do inibidor de C1 funcional, quantidades excessivas de bradicinina são geradas a partir de cininogênio de alto peso molecular (HMWK) e há extravasamento vascular aumentado mediado pela bradicinina que se liga ao receptor B2 (B2-R) na superfície de células endoteliais (Zuraw, 2008). A bradicinina promove inflamação pelo aumento do extravasamento de fluido através das paredes dos vasos sanguíneos para os tecidos do corpo. O acúmulo excessivo de fluidos em tecidos corporais causa os episódios de inchaço vistos em pessoas com angioedema hereditário tipo I e tipo II.

[00126] As mutações no gene F12 são associadas a alguns casos de angioedema hereditário tipo III. O gene F12 provê instruções para fazer o fator de coagulação XII. Em adição a desempenhar um papel crítico na coagulação sanguínea (coagulação), o fator XII também é um importante estimulador da inflamação e está envolvido na produção de bradicinina.

Certas mutações no gene F12 resultam na produção de fator XII com atividade aumentada. Como resultado, mais bradicinina é gerada e as paredes dos vasos sanguíneos se tornam mais vazantes, o que leva a episódios de inchaço. A causa de outros casos de angioedema hereditário tipo III permanece desconhecida. As mutações em um ou mais genes ainda não identificados podem ser responsáveis pelo distúrbio nesses casos.

[00127] O HAE pode apresentar, de maneira semelhante, a outras formas de angioedema resultantes de alergias ou outras condições médicas, mas difere significativamente em causa e tratamento. Quando o angioedema hereditário é diagnosticado erroneamente como uma alergia, é mais comumente tratado com anti-histamínicos, esteroides e/ou epinefrina, que são tipicamente ineficazes no HAE, embora a epinefrina possa ser usada para reações que oferecem risco à vida. Diagnósticos errôneos também resultaram em cirurgia exploratória desnecessária para pacientes com inchaço abdominal e, em alguns pacientes com HAE, dor abdominal foi incorretamente diagnosticada como psicossomática.

[00128] Como os adultos, as crianças com HAE podem sofrer de ataques recorrentes e debilitantes. Os sintomas podem se apresentar muito cedo na infância, e angioedema das vias aéreas superiores foi relatado em pacientes com HAE com idade de até 3 anos (Bork et al., 2003). Em um estudo de caso com 49 pacientes pediátricos com HAE, 23 tinham sofrido pelo menos um episódio de angioedema de vias aéreas até a idade de 18 anos (Farkas, 2010). Uma importante necessidade médica não atendida existe entre as crianças com HAE, especialmente adolescentes, uma vez que a doença comumente se agrava após a puberdade (Bennett e Craig, 2015; Zuraw, 2008).

[00129] As terapias com inibidor de C1, bem como outras terapias para HAE, são descritas em Kaplan, A.P. *J Allergy Clin Immunol,* 2010, 126(5):918-925.

[00130] Provê-se tratamento agudo de ataques de HAE para deter a progressão do edema tão rapidamente quanto possível. Concentrado de inibidor de C1 de sangue de doador, o qual é administrado por via intravenosa, é um tratamento agudo; contudo, esse tratamento não está disponível em muitos países. Em situações emergenciais onde o concentrado de inibidor de C1 não está disponível, plasma congelado fresco (FFP) pode ser usado como uma alternativa, uma vez que ele também contenha inibidor de C1.

[00131] O inibidor de C1 purificado, derivado de sangue humano, tem sido usado na Europa desde 1979. Diversos tratamentos com inibidor de C1 são atualmente disponíveis nos EUA e dois produtos de inibidor de C1 são atualmente disponíveis no Canadá. Berinert P (CSL Behring), que é pasteurizado, foi aprovado pela Administração de Drogas e Alimentos (F.D.A) em 2009 para ataques agudos. Cinryze (ViroPharma), que é nanofiltrado, foi aprovado pela F.D.A. em 2008 para profilaxia. Rhucin (Pharming) é um inibidor de C1 recombinante sob desenvolvimento que não possui o risco de transmissão de doenças infecciosas devido a patógenos transmitidos pelo sangue humano.

[00132] O tratamento de um ataque agudo de HAE também pode incluir medicamentos para alívio da dor e/ou fluidos IV.

[00133] Outras modalidades de tratamento podem estimular a síntese do inibidor de C1, ou reduzir o consumo de inibidor de C1. Medicamentos androgênicos, tais como danazol, podem reduzir a frequência e a gravidade de ataques pelo estímulo da produção de inibidor de C1.

[00134] O *Helicobacter pylori* pode desencadear ataques abdominais. Antibióticos para tratar *H. pylori* diminuirão ataques abdominais.

[00135] Tratamentos mais recentes atacam a cascata em contato. Ecalantida (KALBITOR®, DX-88, Dyax) inibe a calicreína

plasmática e foi aprovada nos Estados Unidos. Icatibanto (FIRAZYR®, Shire) inibe o receptor de bradicinina B2 e foi aprovado na Europa e nos Estados Unidos.

[00136] O diagnóstico de HAE pode depender, por exemplo, do histórico familiar e/ou de exames de sangue. Verificações laboratoriais associadas ao HAE tipos I, II e III estão descritas, por exemplo, em Kaplan, A.P.*J Allergy Clin Immunol*, 2010, 126(5):918-925. No HAE tipo I, o nível de inibidor de C1 é diminuído, assim como o nível de C4, enquanto o nível de C1q é normal. No HAE tipo II, o nível de inibidor de C1 é normal ou aumentado; contudo, a função do inibidor de C1 é anormal. O nível de C4 é diminuído e o nível de C1q é normal. No tipo III, os níveis de inibidor de C1, C4 e C1q podem ser todos normais.

[00137] Sintomas de HAE podem ser avaliados, por exemplo, usando questionários, por exemplo, questionários que são preenchidos por pacientes, médicos ou membros da família. Tais questionários são conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, escalas analógicas visuais. Vide, por exemplo, McMillan, C.V. *et al. Patien*t. 2012;5(2):113-26. Em algumas modalidades, o indivíduo tem HAE tipo I ou HAE tipo II. O HAE tipo I ou HAE tipo II pode ser diagnosticado usando qualquer método conhecido na técnica, tal como, por exemplo, por histórico clínico consistente com HAE (por exemplo, episódios de inchaço subcutâneo ou mucoso sem coceira) ou testes de diagnóstico (por exemplo, testes funcionais de C1-INH e avaliação do nível de C4).

(ii) Tratamento de HAE com anticorpos anti-PKal

[00138] A divulgação provê métodos de tratamento (por exemplo, de melhorar, estabilizar ou eliminar um ou mais sintomas) de angioedema hereditário (HAE) pela administração de um anticorpo descrito neste documento (por exemplo, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo descrito neste documento) a um indivíduo tendo ou em suspeita de ter HAE, por exemplo, de acordo com um cronograma de dosagem

descrito neste documento. Adicionalmente, são providos métodos de tratamento de HAE através da administração de um anticorpo descrito neste documento (por exemplo, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo descrito neste documento), por exemplo, de acordo com um cronograma de dosagem descrito neste documento, ou em combinação com uma segunda terapia, por exemplo, com um outro agente, por exemplo, descrito neste documento. A divulgação também provê métodos de prevenção de HAE ou um sintoma do mesmo, pela administração de um anticorpo descrito neste documento (por exemplo, uma quantidade profilaticamente eficaz de um anticorpo descrito neste documento) a um indivíduo em risco de desenvolver HAE (por exemplo, um indivíduo com um membro da família com HAE ou predisposição genética a ele), por exemplo, de acordo com um cronograma de dosagem descrito neste documento. Em alguns exemplos, o indivíduo pode ser um paciente humano que não tem sintomas de HAE no momento do tratamento. Em algumas modalidades, o indivíduo é um paciente humano que tem HAE tipo I ou HAE tipo II. Em algumas modalidades, o indivíduo é um paciente humano que tenha sofrido pelo menos dois (por exemplo, 2, 3, 4, 5 ou mais) ataques de HAE no ano anterior ao tratamento.

[00139] Em algumas modalidades, o indivíduo é do sexo feminino. Em algumas modalidades, o indivíduo é um indivíduo pediátrico. Em algumas modalidades, o indivíduo humano é um adolescente com menos de 18 anos de idade. Em algumas modalidades, o indivíduo humano é um adolescente com idade entre 12 e 18 anos. Em algumas modalidades, o indivíduo tem entre 40 e menos de 65 anos de idade.

[00140] Em algumas modalidades, o indivíduo pode ser definido pelo gênero. Por exemplo, em algumas modalidades, o indivíduo é do sexo feminino.

[00141] Em algumas modalidades, o indivíduo humano é definido pelo peso. Em algumas modalidades, o indivíduo humano pesa menos de

50 kg. Em algumas modalidades, o indivíduo humano pesa entre 50 kg e 75 kg. Em algumas modalidades, o indivíduo humano pesa entre 75 kg e 100 kg. Em algumas modalidades, o indivíduo humano pesa 100 kg ou mais.

[00142] Em algumas modalidades, qualquer um dos subgrupos de pacientes humanos pode receber o anticorpo anti-pKal (por exemplo, DX-2930) em cerca de 300 mg a cada duas semanas. Em outros casos, tal paciente humano pode receber o anticorpo em cerca de 150 mg a cada duas ou quatro semanas. Em ainda outros casos, tal paciente humano pode receber o anticorpo em cerca de 300 mg a cada quatro semanas.

[00143] Em algumas modalidades, o indivíduo humano é definido pela história anterior de ataques laríngeos ou ausência dos mesmos. Em algumas modalidades, o indivíduo sofreu pelo menos um (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5 ou mais) ataque laríngeo (*ou seja,* ataque laríngeo de HAE) antes da administração dos anticorpos descritos neste documento. Em algumas modalidades, o indivíduo não sofreu um ataque laríngeo antes da administração dos anticorpos descritos neste documento.

[00144] O tratamento inclui a administração de uma quantidade eficaz para aliviar, atenuar, alterar, corrigir, melhorar, aprimorar ou afetar o distúrbio, os sintomas do distúrbio ou a predisposição para o distúrbio. O tratamento também pode retardar o início, por exemplo, prevenir o início ou prevenir a deterioração de uma doença ou condição.

[00145] Métodos de administração de anticorpos DX-2930 também são descritos em "Composições Farmacêuticas". Dosagens adequadas do anticorpo usado podem depender da idade e do peso do indivíduo e em particular da droga usada. O anticorpo pode ser usado como agente competitivo para inibir, reduzir uma interação indesejável, por exemplo, entre a calicreína plasmática e seu substrato (por exemplo, o Fator XII ou HMWK). A dose do anticorpo pode ser a quantidade suficiente para bloquear 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 99,9% da atividade da calicreína plasmática no paciente, especialmente no

sítio da doença. Em algumas modalidades, 150 mg ou 300 mg do anticorpo são administrados a cada duas semanas ou a cada quatro semanas. Em algumas incorporações, o anticorpo é administrado à matéria em um primeiro período do tratamento que compreende uma administração de 150 mg ou 300 mg do anticorpo a cada duas semanas ou cada quatro semanas. Em algumas modalidades, o anticorpo é administrado ao indivíduo em um segundo período de tratamento seguinte ao primeiro período de tratamento. Em algumas modalidades, 300 mg do anticorpo é administrado em uma dose única. Se o indivíduo sofrer um ataque de HAE após a dose única, o anticorpo poderá ser administrado a 300 mg a cada duas semanas.

[00146] Em uma modalidade, os anticorpos são usados para inibir uma atividade (por exemplo, inibir pelo menos uma atividade da calicreína plasmática, por exemplo, reduzir a produção de Fator XIIa e/ou de bradicinina) de calicreína plasmática, por exemplo, *in vivo*. As proteínas de ligação podem ser usadas por si só ou conjugadas com um agente, por exemplo, uma droga citotóxica, uma enzima de citotoxina, ou radioisótopo.

[00147] Os anticorpos podem ser usados diretamente *in vivo* para eliminar células que expressam antígeno por meio da citotoxidade dependente de complemento natural (CDC) ou citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC). Os anticorpos descritos neste documento podem incluir um domínio efetor de ligação ao complemento, tal como as porções Fc de IgG1, 2 ou 3 ou porções correspondentes de IgM que se ligam ao complemento. Em uma modalidade, uma população de células alvo é tratada ex vivo com um anticorpo descrito neste documento e células efetoras apropriadas. O tratamento pode ser suplementado pela adição de complemento ou soro contendo complemento. Adicionalmente, a fagocitose de células alvo revestidas com um anticorpo descrito neste documento pode ser aprimorado pela ligação de proteínas do complemento. Em outra modalidade, células revestidas com o anticorpo que inclui um domínio efetor de ligação ao complemento são lisadas por complemento.

[00148] Métodos de administração de anticorpos DX-2930 também são descritos em "Composições Farmacêuticas". Dosagens adequadas das moléculas usadas dependerão da idade e peso do indivíduo e em particular da droga usada. Os anticorpos podem ser usados como agentes competitivos para inibir ou reduzir uma interação indesejável, por exemplo, entre um agente natural ou patológico e a calicreína plasmática.

[00149] Uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo conforme descrito neste documento pode ser administrada a um indivíduo tendo, ou com suspeita de ter, ou em risco de ter HAE, tratando, desse modo (por exemplo, melhorando ou aprimorando um sintoma ou característica de um distúrbio, desacelerando, estabilizando e/ou interrompendo a progressão da doença) o distúrbio.

[00150] O anticorpo descrito neste documento pode ser administrado em uma quantidade terapeuticamente eficaz. Uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo é a quantidade que é eficaz, mediante administração de dose única ou múltiplas doses a um indivíduo, em tratar um indivíduo, por exemplo, curar, aliviar, atenuar ou aprimorar pelo menos um sintoma de um distúrbio em um indivíduo até um grau além daquele esperado na ausência de tal tratamento.

[00151] Os regimes de dosagem podem ser ajustados para prover a resposta desejada ideal (por exemplo, uma resposta terapêutica). Por exemplo, pode ser administrado um único bolus, várias doses divididas podem ser administradas ao longo do tempo, ou a dose pode ser proporcionalmente reduzida ou aumentada como indicado pelas exigências da situação terapêutica. Em outros exemplos, pode ser administrado um bolus, seguido por várias doses ao longo do tempo, ou a dose pode ser proporcionalmente reduzida ou aumentada como indicado pelas exigências da situação terapêutica. Em outros exemplos, uma dose pode ser dividida em várias doses e ser administrada ao longo do tempo. É especialmente

vantajoso formular composições parenterais em forma unitária de dosagem para facilitar a administração e a uniformidade da dosagem. A forma unitária de dosagem, conforme usado neste documento, se refere a unidades fisicamente discretas adequadas como doses unitárias para os indivíduos a serem tratados; cada unidade contém uma quantidade predeterminada de composto ativo, calculada para produzir o efeito terapêutico desejado, em associação com o carreador farmacêutico exigido.

[00152] Em algumas modalidades, um anticorpo conforme descrito neste documento é administrado em um regime de dosagem durante um primeiro período de tratamento. Em algumas modalidades, o anticorpo é administrado no primeiro período de tratamento em múltiplas doses. Nesse período, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 150 mg ou 300 mg e é administrada toda semana, a cada duas semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 300 mg e é administrada a um indivíduo do sexo feminino toda semana, a cada duas semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 300 mg e é administrada a um indivíduo que tem menos de 18 de idade toda semana, a cada duas semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 300 mg e é administrada a um indivíduo que tem entre 40 e 65 anos de idade toda semana, a cada duas

semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais.

[00153] Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 300 mg e é administrada a um indivíduo que tem mais ou igual 65 anos de idade toda semana, a cada duas semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais. Em exemplos específicos, o anticorpo é dado ao indivíduo em cerca de 300 mg a cada duas semanas. Em outros exemplos específicos, o anticorpo é dado ao indivíduo em cerca de 300 mg a cada quatro semanas.

[00154] Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 300 mg e é administrada a um indivíduo que sofreu pelo menos um ataque de HAE laríngeo anterior, toda semana, a cada duas semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais. Em exemplos específicos, o anticorpo é dado ao indivíduo em cerca de 300 mg a cada duas semanas. Em outros exemplos específicos, o anticorpo é dado ao indivíduo em cerca de 300 mg a cada quatro semanas.

[00155] Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 150 mg ou 300 mg e é administrada a um indivíduo que tem menos de 18 de idade, toda semana, a cada duas semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais. Em exemplos específicos, o anticorpo é dado ao indivíduo em cerca de 300 mg a cada duas semanas. Em outros exemplos específicos, o anticorpo é dado ao indivíduo em cerca de 300 mg a cada quatro semanas.

[00156] Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser cerca de 150 mg ou 300 mg e é administrada a cada duas semanas ou a cada quatro semanas. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser 300 mg e é administrada a um indivíduo a cada duas semanas. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser 300 mg e é administrada ao indivíduo a cada quatro semanas. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser 150 mg e é administrada ao indivíduo a cada quatro semanas. Em algumas modalidades, a quantidade de terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é administrada pelo menos duas vezes, pelo menos três vezes, pelo menos quatro vezes, pelo menos cinco vezes, pelo menos seis vezes, pelo menos sete vezes, pelo menos oito vezes, pelo menos nove vezes, pelo menos dez vezes, pelo menos onze vezes, pelo menos doze vezes, pelo menos treze vezes ou mais. Em algumas modalidades, o primeiro período de tratamento é de 26 semanas. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz é de 150 mg e é administrada ao indivíduo a cada quatro semanas (por exemplo, a cada quatro semanas por 26 semanas, resultando na entrega de 7 doses ao todo). Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz é de 300 mg e é administrada ao indivíduo a cada duas semanas (por exemplo, a cada duas semanas por 26 semanas, resultando na entrega de 13 doses ao todo). Em algumas modalidades, a quantidade terapêutico ou profilaticamente eficaz é de 300 mg e é administrada ao indivíduo a cada quatro semanas (por exemplo, a cada quatro semanas por 26 semanas, resultando na entrega de 7 doses ao todo).

[00157] Em um exemplo, o primeiro período de tratamento é de 26 semanas e o anticorpo é administrado no dia 0, no dia 28, no dia 56, no dia 84, no dia 112, no dia 140 e no dia 168. Em outro exemplo, o primeiro período de tratamento é de 26 semanas e o anticorpo é administrado no dia 0, no dia 14, no dia 28, no dia 42, no dia 56, no dia 70, no dia 84, no dia 98, no dia 112, no dia 126, no dia 140, no dia 154 e no dia 168. Seria compreensível para aqueles versados na técnica que o cronograma de tratamento listado permite uma janela de ± 4 dias (por exemplo, ± 3 dias, ± 2 dias ou ± 1 dia). Por exemplo, uma dose dada no dia 10 a 18 seria abrangida pela dose do dia 14 mencionada acima.

[00158] Em algumas modalidades, uma quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz é administrada em um regime de dosagem durante um segundo período de tratamento após o primeiro período de tratamento. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz é diferente no primeiro período de tratamento e no segundo período de tratamento. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz para o segundo período de tratamento é de cerca de 300 mg. Durante esse período, o anticorpo pode ser administrado em múltiplas doses de cerca de 300 mg, tais como 300 mg administrados a cada duas semanas. Em algumas modalidades, no segundo período de tratamento, as múltiplas doses do anticorpo são administradas pelo menos duas vezes, pelo menos três vezes, pelo menos quatro vezes, pelo menos cinco vezes, pelo menos seis vezes, pelo menos sete vezes, pelo menos oito vezes, pelo menos nove vezes, pelo menos dez vezes, pelo menos onze vezes, pelo menos doze vezes, pelo menos treze vezes. Em algumas modalidades, o segundo período de tratamento é de 26 semanas. Em algumas modalidades, o anticorpo é administrado em uma dose de cerca de 300 mg a cada duas semanas por 26 semanas (por exemplo, resultando na entrega de 13 doses). Em algumas modalidades, a primeira dose única do segundo período de tratamento é administrada

cerca de duas semanas após a última dose do primeiro período de tratamento.

[00159] Em qualquer uma das modalidades descritas neste documento, o momento de administração do anticorpo é aproximado e pode incluir os três dias anteriores e os três dias após o dia indicado (por exemplo, a administração a cada duas semanas abrange a administração no dia 11, dia 12, dia 13, dia 14, dia 15, dia 16 ou dia 17).

[00160] Em algumas modalidades, um anticorpo conforme descrito neste documento é administrado em uma dose única de cerca de 300 mg a um indivíduo que tenha sido submetido a um tratamento de HAE anterior (um primeiro tratamento), tal como um tratamento com múltiplas doses do mesmo anticorpo anti-pKal, conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930). Se o indivíduo sofrer um ataque de HAE após a dose única, o indivíduo poderá ser tratado pelo anticorpo por múltiplas doses a cerca de 300 mg a cada duas semanas, por um período adequado, por exemplo, 26 semanas. Em algumas modalidades, a primeira das múltiplas doses é administrada dentro de uma semana do ataque de HAE (por exemplo, dentro de 1 dia, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 6 dias ou 7 dias do ataque de HAE). Em algumas modalidades, o anticorpo é administrado pelo menos duas vezes, pelo menos três vezes, pelo menos quatro vezes, pelo menos cinco vezes, pelo menos seis vezes, pelo menos sete vezes, pelo menos oito vezes, pelo menos nove vezes, pelo menos dez vezes, pelo menos onze vezes, pelo menos doze vezes, pelo menos treze vezes ou mais.

[00161] O tratamento de HAE anterior pode envolver o mesmo anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930). Em algumas modalidades, o tratamento de HAE anterior pode envolver múltiplas doses de DX-2930 a cada duas semanas ou a cada quatro semanas. Em algumas modalidades, 150 mg de DX-2930 é dado ao indivíduo (por exemplo, por via subcutânea) a cada duas semanas, 300 mg

a cada duas semanas, ou 300 mg a cada quatro semanas. Em um exemplo, o anticorpo foi administrado ao indivíduo previamente a cada duas semanas ou quatro semanas por 26 semanas antes da administração da dose única do anticorpo. Em algumas modalidades, as múltiplas doses do anticorpo do tratamento anterior são administradas pelo menos duas vezes, pelo menos três vezes, pelo menos quatro vezes, pelo menos cinco vezes, pelo menos seis vezes, pelo menos sete vezes, pelo menos oito vezes, pelo menos nove vezes, pelo menos dez vezes, pelo menos onze vezes, pelo menos doze vezes, pelo menos treze vezes. Em algumas modalidades, o anticorpo foi administrado previamente até o dia 0, dia 28, dia 56, dia 84, dia 112, dia 140 e dia 168. Em algumas modalidades, a dose única de cerca de 300 mg do anticorpo é administrada cerca de duas semanas após a última dose do tratamento anterior. Em um exemplo, a dose única do segundo período de tratamento é administrada no dia 182 do primeiro período de tratamento.

[00162] Em qualquer uma das modalidades descritas neste documento, o momento de administração do anticorpo é aproximado e inclui os três dias anteriores e os três dias seguintes ao dia indicado (por exemplo, a administração a cada duas semanas abrange a administração no dia 11, dia 12, dia 13, dia 14, dia 15, dia 16 ou dia 17).

[00163] Em algumas modalidades, antes da administração de um anticorpo de acordo com qualquer um dos métodos descritos neste documento, o indivíduo pode ser avaliado para estabelecer uma taxa de linha de base de ataques de HAE. Tal período de avaliação pode ser referido como um "período pré-tratamento clínico" (*run-in period*). Em algumas modalidades, a taxa de linha de base de ataques de HAE deve atender ou exceder um número mínimo de ataques de HAE em um dado período de tempo. Em um exemplo, o indivíduo sofre pelo menos um ataque de HAE em um período pré-tratamento clínico de quatro semanas antes da primeira administração do anticorpo. Em outro exemplo, o

indivíduo sofre entre 1 e menos de 2 ataques por mês em um período de pré-tratamento clínico de quatro semanas antes da primeira administração do anticorpo. Em outro exemplo, o indivíduo sofre entre 2 e menos de 3 ataques por mês em um período de pré-tratamento clínico de quatro semanas antes da primeira administração do anticorpo. Em outro exemplo, o indivíduo sofre entre 3 ou mais ataques por mês em um período de pré-tratamento clínico de quatro semanas antes da primeira administração do anticorpo. Em outro exemplo, o indivíduo sofre pelo menos dois ataques de HAE em um período pré-tratamento clínico de oito semanas antes da primeira administração do anticorpo. Em ainda outro exemplo, o indivíduo experimenta uma média de pelo menos um ataque de HAE por mês.

[00164] Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 150 mg ou 300 mg e é administrada a um indivíduo que sofreu entre 1 e menos de 2 ataques de HAE por mês em um período pré-tratamento clínico antes da primeira administração do anticorpo, toda semana, a cada duas semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 150 mg ou 300 mg e é administrada a um indivíduo que sofreu entre 2 e menos de 3 ataques de HAE por mês em um período pré-tratamento clínico anterior à primeira administração do anticorpo, a cada duas semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais. Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 150 mg ou 300 mg e é administrada a um indivíduo que sofreu mais de 3 ataques de HAE por mês em um período pré-tratamento clínico anterior à primeira administração do

anticorpo, a cada duas semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais.

[00165] Em algumas modalidades, a administração de um anticorpo de acordo com qualquer um dos métodos descritos neste documento resulta em uma redução da taxa média de ataques de HAE em um indivíduo. Em algumas modalidades, uma redução percentual da taxa média de ataques de HAE após a administração de um anticorpo de acordo com qualquer um dos métodos descritos neste documento pode ser determinado em relação a uma taxa de ataques de HAE em indivíduos que não receberam o anticorpo (por exemplo, indivíduos que receberam um placebo). Em algumas modalidades, a redução percentual da taxa média de ataques de HAE pode ser de pelo menos 10%, pelo menos 15%, pelo menos 20%, pelo menos 25%, pelo menos 30%, pelo menos 35%, pelo menos 40%, pelo menos 45%, pelo menos 50%, pelo menos 55%, pelo menos 60%, pelo menos 65%, pelo menos 70%, pelo menos 75%, pelo menos 80%, pelo menos 85%, pelo menos 90%, ou pelo menos 95% em relação a uma taxa de ataques de HAE em indivíduos que não receberam o anticorpo (por exemplo, indivíduos que receberam um placebo).

[00166] Qualquer um dos indivíduos descritos neste documento pode ter sido submetido a tratamento anterior de HAE, tal como um tratamento profilático ou terapêutico de HAE. Aspectos da presente divulgação também provêm métodos de administração de um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) a um indivíduo que tenha recebido um ou mais tratamentos anteriores para HAE. Em algumas modalidades, o tratamento anterior de HAE é um tratamento que envolve um anticorpo descrito neste documento (por exemplo, DX-2930). Em algumas modalidades, o indivíduo foi anteriormente administrado com múltiplas doses de DX-2930 a cada duas semanas ou a cada quatro semanas. Em algumas modalidades, o indivíduo foi administrado

anteriormente com 150 mg de DX-2930 a cada duas semanas. Em algumas modalidades, o indivíduo foi administrado anteriormente com 300 mg de DX-2930 a cada duas semanas. Em algumas modalidades, o indivíduo foi administrado anteriormente com 300 mg de DX-2930 a cada quatro semanas. Em algumas modalidades, as múltiplas doses do anticorpo do tratamento anterior são administradas pelo menos duas vezes, pelo menos três vezes, pelo menos quatro vezes, pelo menos cinco vezes, pelo menos seis vezes, pelo menos sete vezes, pelo menos oito vezes, pelo menos nove vezes, pelo menos dez vezes, pelo menos onze vezes, pelo menos doze vezes, pelo menos treze vezes.

[00167] Em algumas modalidades, o indivíduo recebeu um ou mais tratamentos anteriores para HAE, tal como um tratamento profilático de longo prazo, que pode envolver qualquer um dos agentes terapêuticos para HAE conhecidos na técnica. Exemplos de agentes anti-HAE incluem, mas não estão limitados a inibidores de C1 (por exemplo, Cinryze®, Berinert®, ou Ruconest®), inibidores de calicreína plasmática (por exemplo, Kalbitor®), inibidores do receptor de bradicinina (por exemplo, Firazyr®), androgênios atenuados (por exemplo, danazol) e antifibrinolíticos (por exemplo, ácido traexâmico). Em algumas modalidades, o indivíduo recebeu tratamento com um inibidor de C1 antes do primeiro período de tratamento. Em alguns exemplos, um indivíduo pode passar por um período de redução gradual antes de receber o tratamento com anticorpo anti-pKal conforme descrito neste documento. Um período de redução gradual se refere a um período, antes do tratamento com anticorpo anti-pKal, durante o qual um indivíduo que está sob um tratamento anti-HAE (por exemplo, C1-INH, androgênio oral e/ou antifibrinolítico oral) reduz gradualmente a dosagem, a frequência ou ambos do agente anti-HAE, de tal modo que o indivíduo possa gradualmente transitar a partir do tratamento de HAE anterior para o tratamento com anticorpo anti-pKal conforme descrito neste documento. Em algumas modalidades, a redução gradual envolve um método gradual ou

em etapas de redução da dosagem do tratamento anterior e/ou a frequência com a qual o tratamento anterior é administrado. O período de redução gradual pode durar de 2 a 4 semanas e pode variar com base em fatores de um paciente individual. Em alguns exemplos, o tratamento anterior termina antes do início do tratamento com anticorpo anti-pKal. Em outros exemplos, o tratamento anterior pode terminar dentro de um período de tempo adequado (por exemplo, 2 semanas, 3 semanas ou 4 semanas) depois que a primeira dose do anticorpo anti-pKal é dada ao indivíduo.

[00168] Alternativamente, um indivíduo que esteja em um tratamento de HAE anterior pode sofrer transição para o tratamento com anticorpo anti-pKal conforme descrito neste documento diretamente, sem o período de redução gradual.

[00169] Em algumas modalidades, a quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser de cerca de 150 mg ou 300 mg e é administrada a um indivíduo que recebeu um ou mais tratamento para HAE anteriores a cada duas semanas, a cada três semanas, a cada quatro semanas, a cada cinco semanas, a cada seis semanas, a cada sete semanas, a cada oito semanas ou mais.

[00170] Em outras modalidades, o indivíduo não obteve qualquer tratamento anterior de HAE antes do primeiro tratamento, do primeiro período de tratamento e/ou dos tratamentos de dose única ou múltiplas doses de acompanhamento conforme descritos neste documento (o segundo período de tratamento). Em algumas modalidades, o indivíduo não obteve qualquer tratamento diferente daquele com os anticorpos descritos neste documento durante o primeiro período de tratamento e/ou durante o segundo período de tratamento. Em algumas modalidades, o indivíduo não obteve qualquer tratamento anterior de HAE por pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos duas, três, quatro, cinco semanas ou mais) antes do primeiro tratamento ou do primeiro período de tratamento, durante o primeiro tratamento ou primeiro período de tratamento e/ou durante o

segundo período de tratamento. Em algumas modalidades, o indivíduo não obteve profilaxia de longo prazo para HAE (por exemplo, inibidor de C1, androgênios atenuados, antifibrinolíticos) por pelo menos duas semanas antes do primeiro tratamento ou primeiro período de tratamento, durante o primeiro período de tratamento e/ou durante o segundo período de tratamento. Em algumas modalidades, o indivíduo não obteve um tratamento de HAE envolvendo um inibidor da enzima conversora de angiotensina (ACE) por pelo menos as quatro semanas antes do primeiro tratamento ou do primeiro período de tratamento, durante o primeiro período de tratamento e/ou durante o segundo período de tratamento. Em algumas modalidades, o indivíduo não obteve uma medicação contendo estrogênio por pelo menos as quatro semanas antes do primeiro tratamento ou do primeiro período de tratamento, durante o primeiro período de tratamento e/ou durante o segundo período de tratamento. Em algumas modalidades, o indivíduo não obteve androgênios (por exemplo, stanozolol, danazol, oxandrolona, metiltestosterona, testosterona) durante pelo menos as duas semanas antes do primeiro tratamento ou do primeiro período de tratamento, durante o primeiro período de tratamento e/ou durante o segundo período de tratamento.

[00171] Qualquer um dos métodos descritos neste documento pode compreender adicionalmente monitorar o paciente para efeitos colaterais (por exemplo, elevação de níveis de creatina fosfatase) e/ou níveis de inibição da pKal pelo anticorpo (por exemplo, soro ou concentração plasmática do anticorpo ou do nível de atividade de pKal) antes e após o tratamento ou durante o curso do tratamento. Se um ou mais efeitos adversos forem observados, a dose do anticorpo pode ser reduzida ou o tratamento pode ser interrompido. Se o nível de inibição estiver abaixo de um nível terapêutico mínimo, pode ser necessário administrar doses adicionais do anticorpo ao paciente. Os pacientes também podem ser avaliados para a geração de anticorpos contra o

anticorpo administrado; atividade do inibidor de C1, C4, e/ou C1q; qualidade de vida; incidência de quaisquer ataques de HAE, qualidade de vida relacionada à saúde, ansiedade e/ou depressão (por exemplo, Escala de Ansiedade e Depressão Hospitalar (HADS)), produtividade no trabalho (por exemplo, Questionário de Produtividade no Trabalho e Prejuízo da Atividade (WPAI)), preferência da administração subcutânea do anticorpo (por exemplo, D-2930) em relação a outros injetáveis, qualidade de vida (por exemplo, angioedema-qualidade de vida (AE-QOL), relatório EuroQoL Group 5-dimension).

[00172] Em algumas modalidades, a concentração plasmática ou sérica do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser medida durante o curso do tratamento (por exemplo, após a dosagem inicial) para avaliar a eficácia do tratamento. Se a concentração plasmática ou sérica do anticorpo for inferior a cerca de 80 nM, pode ser necessária uma dosagem de acompanhamento, a qual pode ser igual ou superior à dosagem inicial. A concentração plasmática ou sérica do anticorpo pode ser medida através da determinação do nível de proteína do anticorpo em uma amostra de plasma ou soro obtida a partir do indivíduo, por exemplo, por um imunoensaio ou ensaio por MS. A concentração plasmática ou sérica do anticorpo também pode ser medida através da determinação do nível de inibição de pKal em uma amostra de plasma ou soro obtida a partir de um indivíduo tratado com o anticorpo. Tais ensaios podem incluir o ensaio de substrato sintético ou o ensaio por Western blot para medir cininogênio clivado conforme descrito neste documento.

[00173] Alternativa ou adicionalmente, o nível plasmático ou sérico de creatina quinase e/ou um ou mais parâmetros de coagulação (por exemplo, tempo parcial de tromboplastina ativada (aPTT), tempo de protrombina (PT), eventos de sangramento) podem ser monitorados durante o curso do tratamento. Se for verificado que o nível plasmático ou sérico de creatina quinase se eleva durante o tratamento, a dosagem do

anticorpo poderá ser reduzida ou o tratamento poderá ser interrompido. Semelhantemente, se for verificado que um ou mais parâmetros de coagulação são afetados significativamente durante o tratamento, a dosagem do anticorpo poderá ser modificada ou o tratamento poderá ser interrompido.

[00174] Em algumas modalidades, uma dosagem ideal (por exemplo, dosagem profilática ideal ou dosagem terapêutica ideal) do anticorpo (por exemplo, DX-2930) pode ser determinada conforme a seguir. O anticorpo é dado a um indivíduo em necessidade de tratamento em uma dose inicial. A concentração plasmática do anticorpo no indivíduo é medida. Se a concentração plasmática for inferior a 80 nM, a dose do anticorpo é aumentada em uma administração subsequente. Uma dosagem do anticorpo que mantém a concentração plasmática do anticorpo acima de cerca de 80 nM pode ser escolhida como a dosagem ideal para o indivíduo. O nível de creatina fosfoquinase do indivíduo pode ser monitorado durante o curso do tratamento e a dosagem ideal para esse indivíduo pode ser ajustada adicionalmente com base no nível de creatina fosfoquinase, por exemplo, a dosagem do anticorpo pode ser reduzida se a elevação da creatina fosfoquinase for observada durante o tratamento.

(iii) Terapias de Combinação

[00175] Um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) pode ser administrado em combinação com uma ou mais das outras terapias para tratar uma doença ou condição associada à atividade da calicreína plasmática, por exemplo, uma doença ou condição descrita neste documento. Por exemplo, um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) pode ser usado terapêutica ou profilaticamente (por exemplo, antes, durante ou após o curso do tratamento) com outro Fab ou IgG anti-calicreína plasmática (por exemplo, outro Fab ou IgG descrito neste documento), outro inibidor de calicreína plasmática, um inibidor de peptídeo, inibidor de pequenas moléculas, ou

cirurgia. Exemplos de inibidores de calicreína plasmática que podem ser usados em terapia de combinação com anticorpos de ligação à calicreína plasmática descritos neste documento incluem inibidores de calicreína plasmática descritos em, por exemplo, WO 95/21601 ou WO 2003/103475.

[00176] Um ou mais inibidores de calicreína plasmática podem ser usados em combinação com um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930). Por exemplo, a combinação pode resultar na necessidade de uma dose mais baixa do inibidor, de tal modo que efeitos colaterais sejam reduzidos.

[00177] Um anticorpo conforme descrito neste documento (por exemplo, DX-2930) pode ser administrado em combinação com uma ou mais terapias atuais para o tratamento de HAE. Por exemplo, o anticorpo DX-2930 pode ser co-usado com um segundo agente terapêutico anti-HAE, tal como ecalantida, um inibidor de esterase C1 (por exemplo, CINRYZE™), aprotinina (TRASYLOL®) e/ou um inibidor do receptor de bradicinina B2 (por exemplo, icatibanto (FIRAZYR®)).

[00178] O termo "combinação" se refere ao uso dos dois ou mais agentes ou terapias para tratar o mesmo paciente, em que a ação dos agentes ou terapias se sobrepõem em tempo. Os agentes ou terapias podem ser administrados ao mesmo tempo (por exemplo, como uma formulação única que é administrada a um paciente ou como duas formulações distintas administradas concomitante) ou sequencialmente em qualquer ordem. Administrações sequenciais são administrações que são dadas em momentos diferentes. O tempo entre a administração do um agente e do outro agente pode ser de minutos, horas, dias ou semanas. O uso de um anticorpo de ligação à calicreína plasmática descrito neste documento também pode ser usado para reduzir a dosagem de outra terapia, por exemplo, para reduzir os efeitos colaterais associados a outro agente que está sendo administrado. Por conseguinte, uma combinação pode incluir a administração de um segundo agente a uma dosagem pelo

menos 10, 20, 30 ou 50% menor do que a que seria usada na ausência do anticorpo de ligação à calicreína plasmática. Em algumas modalidades, um inibidor de C1 pode ser dado a um indivíduo como uma dose IV de carregamento ou dose SC simultaneamente à primeira dose de um anticorpo anti-pKal (por exemplo, DX-2930), conforme descrito neste documento. O indivíduo pode então continuar com o tratamento com anticorpo anti-pKal (sem doses adicionais de inibidor de C1).

[00179] Uma terapia de combinação pode incluir administração de um agente que reduz os efeitos colaterais de outras terapias. O agente pode ser um agente que reduz os efeitos colaterais de um tratamento de doença associada à calicreína plasmática.

(iv) Ensaios para avaliar um regime de tratamento

[00180] Também dentro do escopo da presente divulgação estão métodos de ensaio para avaliar a eficácia de qualquer um dos métodos de tratamento descritos neste documento. Em algumas modalidades, a concentração plasmática ou sérica de um ou mais biomarcadores (por exemplo, HMWK com 2 cadeias) associados à HAE pode ser medida antes e/ou durante o curso do tratamento (por exemplo, após a dosagem inicial) para avaliar a eficácia do tratamento. Em algumas modalidades, a concentração (nível) plasmática ou sérica de um ou mais biomarcadores associados à HAE obtida em um momento após a administração de uma dosagem é comparada com a concentração do biomarcador em uma amostra obtida em um momento anterior após a administração de uma dosagem ou antes da administração da dosagem inicial. Em algumas modalidades, o biomarcador é 2-HMWK.

[00181] O nível do biomarcador pode ser medido pela detecção do biomarcador em uma amostra de plasma ou soro obtida a partir do indivíduo, por exemplo, por um imunoensaio, tal como ensaio por Western blot ou ELISA, usando um anticorpo que detecta especificamente o biomarcador. Em algumas modalidades, o nível de 2-HWMK em uma

amostra de plasma ou soro obtida a partir do indivíduo é avaliado por um imunoensaio. Anticorpos para uso em imunoensaios para a detecção de 2-HWMK são conhecidos na técnica e a seleção de tal anticorpo para uso nos métodos descritos neste documento será evidente para alguém com conhecimento comum na técnica.

[00182] Sem elaboração adicional, acredita-se que um versado na técnica pode, com base na descrição acima, utilizar a presente invenção em toda sua extensão. As seguintes modalidades específicas devem, portanto, ser interpretadas como meramente ilustrativas e não limitantes do restante da divulgação em qualquer aspecto. Todas as publicações citadas neste documento são incorporadas por referência para os fins ou matérias mencionados neste documento.

EXEMPLOS

Exemplo 1: Eficácia e Segurança do Tratamento DX-2930 em Subpopulações de Pacientes Humanos

[00183] O Lanadelumab é uma solução para injeção estéril, livre de conservantes, pH 6,0. O ingrediente ativo, anticorpo DX-2930, é formulado usando os seguintes componentes compendiais: 30 mM de fosfato de sódio dibásico di-hidratado, 19,6 mM de ácido cítrico mono-hidratado, 50 mM de L-histidina, 90 mM de cloreto de sódio, 0,01% de Polissorbato 80. Cada frasco contém uma concentração nominal de 150 mg do ingrediente ativo DX-2930 em 1 mL de solução. O produto de teste é administrado por injeção subcutânea (SC) no braço de maneira cega.

[00184] O placebo consiste na formulação inativa do produto de teste: 30 mM de fosfato de sódio dibásico di-hidratado, 19,6 mM de ácido cítrico mono-hidratado, 50 mM de L-histidina, 90 mM de cloreto de sódio, pH 6,0 com 0,01% de Polissorbato 80. Doses de placebo foram administradas a indivíduos randomizados para o braço de tratamento com placebo e entre doses de DX-2930 para indivíduos randomizados para os braços de tratamento de 300 mg ou 150 mg de DX-2930 a cada 4 semanas.

[00185] Os pacientes com ≥12 anos de idade com HAE tipo I/II e ≥1 ataque/mês na linha de base foram randomizados 2:2:2:3 com 150 mg de lanadelumab a cada 4 semanas (q4s), 300 mg a q4s, 300 mg a q2s ou placebo. As análises exploratórias foram planejadas para subgrupos com números adequados de pacientes para regressão de Poisson.

[00186] Os seguintes desfechos de eficácia primário e secundário foram avaliados a partir do Dia 14 até o Dia 182. O desfecho primário do estudo foi o número de ataques de HAE e a taxa média de ataques de HAE. Os desfechos secundários incluíram, em ordem de classificação:

1. Número de ataques de HAE que exigem tratamento agudo
2. Número de ataques de HAE moderados a graves

Desfechos de Eficácia Exploratórios

[00187] 1. Tempo até o primeiro ataque após o dia 14, ou seja, a duração que um indivíduo não obteve ataques após o dia 14 até o seu primeiro ataque.

[00188] 2. Número por semana de ataques de HAE de alta morbidade; um ataque de HAE de alta morbidade é definido como qualquer ataque que tenha pelo menos uma das seguintes características: seja grave, resulte em internação (exceto internação para observação < 24 horas), seja hemodinamicamente significativo (pressão arterial sistólica < 90, requeira hidratação IV ou seja associado a síncope ou quase síncope) ou seja laríngeo.

Testes Laboratoriais Clínicos

[00189] Pacientes envolvidos no estudo clínico foram submetidos a testes laboratoriais, incluindo parâmetros gerais de segurança (hematologia, coagulação, exame de urina e química sérica), sorologia, testes de gravidez, ensaio funcional de C1-INH, ensaio de C4, ensaio de C1q, amostras de PK, testes de anticorpos antidroga plasmáticos e amostras de PD. Todos os testes laboratoriais são realizados usando métodos estabelecidos e validados.

Resultados

[00190] Em geral, 125 pacientes foram tratados com lanadelumab (n=84) ou placebo (n=41). A taxa média de ataques de HAE foi determinada para todos os pacientes e, por conseguinte, para todos os subgrupos de pacientes. O número médio de ataques de HAE foi usado para determinar as reduções percentuais na taxa média de ataques de HAE para pacientes aos quais foi administrado DX-2930 em relação aos pacientes que receberam o placebo. As taxas de ataque de HAE foram consistentemente reduzidas com DX-2930 em relação ao placebo em todos os pacientes e subgrupos de pacientes. Contudo, conforme mostrado na Tabela 2, maiores reduções percentuais em relação ao tratamento com placebo, *ou seja,* reduções mais terapeuticamente eficazes, foram observadas para vários subgrupos de pacientes quando administrado 300mg de DX-2930 a cada duas semanas em relação a 300 mg de DX-2930 a cada quatro semanas (ou 150 mg de DX-2930 a cada quatro semanas). Especificamente, os pacientes com idade <18 anos que receberam 300mg de DX-2930 a cada 4 semanas tiveram uma redução de 20,5% na taxa de ataque de HAE em relação ao placebo; pacientes com idade <18 anos que receberam 300 mg de DX-2930 a cada 2 semanas tiveram uma redução adicional na taxa de cerca de 42 pontos percentuais (62,3%) (Figura 3A). Os pacientes com idade 40 a <65 anos que receberam 300mg de DX-2930 a cada 4 semanas tiveram uma redução de 71,5% na taxa de ataque de HAE em relação ao placebo; pacientes com idade 40 a <65 anos que receberam 300 mg de DX-2930 a cada 2 semanas tiveram uma redução adicional na taxa de cerca de 18 pontos percentuais mais baixos (89,8%). Os pacientes do sexo feminino que receberam 300mg de DX-2930 a cada 4 semanas tiveram uma redução de 69,6% na taxa de ataque de HAE em relação ao placebo; pacientes do sexo feminino que receberam 300 mg de DX-2930 a cada 2 semanas tiveram uma redução adicional na taxa de cerca de 16 pontos percentuais (85,8%). Os pacientes

com um histórico de ataque laríngeo anterior que receberam 300mg de DX-2930 a cada 4 semanas tiveram uma redução de 64,2% na taxa de ataque de HAE em relação ao placebo; pacientes com um histórico de ataque laríngeo anterior que receberam 300 mg de DX-2930 a cada 2 semanas tiveram uma redução adicional de cerca de 21 pontos percentuais mais baixos (85,7%).

Tabela 2: Reduções Percentuais em Subgrupos de Pacientes em Relação ao Tratamento com Placebo

	300 mg de DX-2930 a cada 4 semanas	300 mg de DX-2930 a cada 2 semanas
Idade < 18 anos.	20,5%	62,3%
Idade 18 a < 40 anos.	80.3%	84,5%
Idade 40 a < 65 anos.	71,5%	89,8%
Sexo masculino	82,4%	90,3%
Sexo feminino	69.6%	85.8%
Peso 50 a < 75 kg	78,4%	93,1%
Peso 75 a < 100 kg	74,0%	84,0%
Peso > 100 kg	61,3%	82,7%
HAE do Tipo I	73,4%	87,8%
HAE do Tipo II	60,1%	69,8%
Ataques laríngeos anteriores	64,2%	85,7%
Sem ataques laríngeos anteriores	85,8%	88,0%

[00191] Embora todos os pacientes com HAE do tipo I/II tratados com 300 mg de lanadelumab a q2s ou a q4s experimentaram reduções clinicamente significativas e persistentes na taxa de ataque de HAE em comparação com o placebo, paciente de certas subpopulações, por exemplo, mulheres, pacientes com idade < 18 anos ou entre 40 a 65, e aqueles que tiveram pelo menos um ataque laríngeo anterior, mostraram melhor eficácia do tratamento com 300 mg a cada duas semanas.

[00192] Os pacientes também foram estratificados com base nos ataques de HAE durante o período de pré-tratamento clínico para avaliar a eficácia de cada regime de tratamento com lanadelumab nesses subgrupos de pacientes. Conforme mostrado nas Tabelas 3 a 5 e Figuras 1A a 1C, cada um dos regimes de tratamento com lanadelumab resultou em uma redução significativa na taxa de ataque de HAE em comparação com o placebo em todos os subgrupos.

Tabela 3: Pacientes com 1 a < 2 ataques por mês no pré-tratamento (n=38)

		Lanadelumab		
Característica	Placebo	150 mg q4s	300 mg q4s	300 mg q2s
Taxa de ataque de HAE do período de pré-tratamento clínico				
n	12	10	9	7
Meio (SD)	1,22 (0,37)	1,33 (0,45)	1,30 (0,47)	1,12 (0,36)
Média (min, max)	1,0 (1,0, 1,9)	1,0 (1,0, 1,9)	1,0 (1,0, 1,9)	1,0 (1,0, 1,9)
Taxa de ataque de HAE do período de tratamento				
n	12	10	9	7
Meio (SD)	0,94 (0,49)	0,47 (0,69)	0,19 (0,21)	0,07 (0,08)
Média (min, max)	1,02 (0,0, 1,7)	0,15 (0,0, 1,8)	0,15 (0,0, 0,5)	0,0 (0,0, 0,2)

Tabela 4: Pacientes com 2 a < 3 ataques por mês no pré-tratamento (n=22)

		Lanadelumab		
Característica	Placebo	150 mg q4s	300 mg q4s	300 mg q2s
Taxa de ataque de HAE do período de pré-tratamento clínico				
n	8	3	5	6
Meio (SD)	2,31 (0,38)	2,49 (0,43)	2,27 (0,40)	2,50 (0,41)
Média (min, max)	2,14 (2,0, 2,9)	2,67 (2,0, 2,8)	2,0 (2,0, 2,9)	2,59 (2,0, 2,9)
Taxa de ataque de HAE do período de tratamento				
n	8	3	5	6
Meio (SD)	2,12 (0,59)	0,20 (0,35)	0,49 (0,40)	0,25 (0,29)
Média (min, max)	2,12 (1,2, 2,9)	0,0 (0,0, 0,6)	0,62 (0,0, 0,9)	0,15 (0,0, 0,6)

Tabela 5: Pacientes com ≥3 ataques por mês no pré-tratamento (n=65)

		Lanadelumab		
Característica	Placebo	150 mg q4s	300 mg q4s	300 mg q2s
Taxa de ataque de HAE do período de pré-tratamento clínico				
n	21	15	15	14
Meio (SD)	6,27 (3,16)	4,62 (1,25)	5,63 (1,99)	5,16 (2,06)
Média (min, max)	5.0 (3.0, 14.7)	4.0 (3.0, 6.7)	5.33 (3.0, 10.5)	4.08 (3.1, 9.0)
Taxa de ataque de				

HAE do período de tratamento				
n	21	15	15	14
Meio (SD)	3,45 (2,44)	0,55 (9,64)	0,89 (1,00)	0,45 (0,65)
Média (min, max)	2.30 (0.8, 8.3)	0.30 (0.0, 2.0)	0.46 (0.0, 2.9)	0.15 (0.0, 1.8)

[00193] Em pacientes que usaram apenas inibidor de C1 (C1-INH) como profilaxia de longo prazo, as taxas de ataque na linha de base aumentaram em relação às taxas históricas (durante os últimos 3 meses) durante a descontinuação de C1-INH por protocolo (Figura 2A). As taxas de ataque durante o tratamento com lanadelumab foram menores do que as taxas de ataque históricas. A taxa de ataque diminuiu em média em 68,8%, 59,3% e 82,1% durante o tratamento com 150 mg de lanadelumab a q4s, 300 mg a q4s e 300 mg a q2s, respectivamente, em relação às taxas de ataque históricas durante a profilaxia de longo prazo.

[00194] Houve um efeito consistente do tratamento com lanadelumab em pacientes que usaram C1-INH apenas para profilaxia e em pacientes que não usaram profilaxia de longo prazo quando comparados com placebo usando o modelo de regressão de Poisson (Figura 2B). Em pacientes que usaram C1-INH apenas para profilaxia de longo prazo antes da administração de lanadelumab, a taxa de ataque média foi significativamente reduzida em 73,6%, 71,6% e 82,5% nos regimentos de 150 mg de lanadelumab a q4s, 300 mg a q4s e 300 mg a q2s, respectivamente, com relação ao placebo ($P<0,001$ para todas as comparações).

[00195] A redução percentual nas taxas de ataque de HAE em indivíduos que receberam lanadelumab em cada um dos regimes de dosagem em comparação com o placebo foi avaliada para subgrupos de indivíduos, de tal modo como com base na idade, sexo, peso, tipo de HAE

(por exemplo, Tipo I ou Tipo II), e ataques laríngeos anteriores. Figuras 4A a 4E e 5.

[00196] Lanadelumab suprimiu notavelmente a ativação de pKal, conforme mostrado por seu efeito nos níveis de cHMWK. As respostas clínicas ideais com um regime de dose fixa de 300 mg a cada duas semanas foram observadas em adolescentes e adultos em uma grande variedade de pesos corporais.

Exemplo 2: Eficácia e Segurança do Tratamento com DX-2930 (lanadelumab) em Pacientes Adolescentes Humanos

[00197] A eficácia e segurança de lanadelumab, um anticorpo monoclonal que visa a calicreína plasmática, em adolescentes com HAE com deficiência do inibidor C1 foram investigadas neste estudo de Fase 3 e um estudo de extensão aberto (OLE).

[00198] Para o estudo de Fase 3, os pacientes com idade ≥12 anos com ≥1 ataque confirmado pelo investigador/4 semanas foram randomizados para receber placebo ou 150 mg a cada 4 semanas (150 mg a q4s), 300 mg q4s ou 300 mg q2s lanadelumab. No estudo de Fase 3, 10 de 125 pacientes (8%) eram adolescentes (≥12 a <18 anos de idade). Antes do início do estudo de Fase 3, 60,0% dos pacientes receberam C1-INH apenas para profilaxia de longo prazo.

[00199] Em geral, os indivíduos advindos de fases anteriores no estudo de extensão aberto foram tratados com lanadelumab seguindo um regime de tratamento do ensaio de Fase 3 (*ou seja,* 150 mg a cada 4 semanas, 300 mg a cada 4 semanas, 300 mg a cada 2 semanas). No estudo de extensão aberto, os indivíduos recebem uma dose aberta única de 300 mg de lanadelumab administrada por via subcutânea no Dia 0. Os indivíduos não receberão quaisquer doses de lanadelumab adicionais até seu primeiro ataque de HAE relatado e confirmado pelo investigador. Uma vez que indivíduo advindo de fases anteriores relata seu primeiro ataque de HAE, o indivíduo recebe uma segunda dose aberta de lanadelumab o mais

rápido possível, com um mínimo de 10 dias entre a primeira dose aberta e a segunda dose. Após a sua segunda dose, indivíduos advindos de fases anteriores continuarão a receber administrações por via subcutânea de 300mg de dose aberta de lanadelumab a cada 2 semanas durante o restante do período de tratamento pelo cronograma de dosagem. O período de tratamento dura 350 dias a partir da data da primeira dose aberta.

[00200] Os indivíduos não advindos de fases anteriores no estudo de extensão aberto recebem uma dose aberta de 300 mg de lanadelumab administrada por via subcutânea no Dia 0 e continuam a receber administrações por vias subcutâneas de 300 mg de lanadelumab aberto a cada 2 semanas durante todo o período de tratamento pelo cronograma de dosagem. Um total de 26 doses são administradas, com a última dose sendo administrada no Dia 350 da visita de estudo.

[00201] Para pacientes advindos de fases anteriores, receberam 62,5% de C1-INH apenas antes do início do estudo de extensão aberto. Para pacientes adolescentes não advindos de fases anteriores, receberam 61,6% de terapia de profilaxia de longo prazo (apenas C1-INH ou C1-INH e terapia oral) antes do início do estudo (principalmente C1-INH apenas; 46,2%). Taxa de ataque mensal (MAR) e outros eventos emergentes do tratamento (TEAEs) foram registrados.

[00202] Três indivíduos adolescentes tiveram 13 eventos adversos emergentes do tratamento não sério (TEAEs). No estudo de extensão aberto, 21/212 pacientes (9,9%) eram adolescentes. Pacientes advindos de fases anteriores (n=8) e pacientes não advindos de fases anteriores (n=13), respectivamente, tiveram uma taxa de ataque média (SD) mensal de 1,65 (1,158) e 1,54 (0,971) na linha de base e 0,35 (0,635) e 0,07 (0,166) durante o período de tratamento, *ou seja,* uma variação percentual média (SD) de -84,371 (18,9415) e -94,893 (10,5230). Nove pacientes tiveram 65 TEAEs não sério relacionados ao lanadelumab.

[00203] Os resultados deste estudo são providos na Tabela 6 abaixo. Lanadelumab foi considerado eficaz na redução da MAR e seguro em adolescentes com HAE.

Tabela 6: Reduções Percentuais em Indivíduos Adolescentes entre 12 e menos de 18 anos de idade.

	Número de Indivíduos	Taxa de ataque mensal durante o pré-tratamento (desvio padrão)	Taxa de ataque mensal durante o período de tratamento (desvio padrão)
Placebo	4	1,825 (1,460)	0,917 (0,992)
150 mg a cada 4 semanas	1	1,000	0,000
300 mg a cada 2 semanas	3	0,989 (0,020)	0,304 (0,263)
300 mg a cada 2 semanas	2	1,948 (1,341)	0,306 (0,433)

[00204] No estudo de Fase 3, uma taxa de ataque de HAE média de mínimos quadrados (SE) mais baixa foi observada do dia 0 ao dia 182 em pacientes tratados com 300 mg de lanadelumab a q4s (n=3; 0,436 [0,253]) ou 300 mg de lanadelumab a q2s (n=2; 0,207 [0,148]) em comparação com aqueles que receberam placebo (n=4; 0,548 [0,224]). Isso não foi estimado no braço de tratamento de 150 mg a q4s, pois incluiu apenas 1 paciente adolescente. A razão da taxa de ataque média mensal dos quadrados estimados (com relação ao placebo), com 95% de CI, favoreceu o tratamento com lanadelumab, particularmente o regime de dose de 300 mg a cada q2s (Figura 3C). No estudo de extensão aberto, a alteração percentual média (SD) da linha de base na taxa de ataque média mensal foi de 84,37 (18,94) para pacientes advindos de fases anteriores

(n=8; no estágio de dosagem regular) e -94,89 (10,52) para pacientes não advindos de fases anteriores (n=13; Figura 3B).

[00205] No estudo de Fase 3, 3 pacientes adolescentes tiveram 13 TEAEs não sério relacionados ao lanadelumab (Tabela 7). Os TEAEs mais comuns que ocorreram em > 1 paciente durante o tratamento com lanadelumab foram dor no local da injeção (3 pacientes) e erupção cutânea (2 pacientes). No estudo de extensão aberto, 9 pacientes tiveram 65 TEAEs não sérios relacionados ao lanadelumab durante um tempo médio do indivíduo de 0,63 anos. Os TEAEs mais comuns que ocorreram em > 1 paciente foram dor no local da injeção (9 pacientes), infecção viral do trato respiratório superior (3 pacientes), influenza (2 pacientes), faringite estreptocócica (2 pacientes), infecção do trato respiratório superior (2 pacientes), dor abdominal (2 pacientes) e cefaleia (2 pacientes). Em geral, o TEAE mais comum relacionado à administração de lanadelumab que foi registrado em > 1 paciente foi a dor no local da injeção (3 pacientes no estudo de Fase 3 e 8 pacientes no estudo OLE; Tabela 7). Estes foram semelhantes aos identificados na população geral do estudo de Fase 3.

[00206] Tanto no estudo de Fase 3 quanto em seu OLE, não houve mortes ou interrupções do estudo devido a um TEAE.

Tabela 7: TEAEs (excluindo ataques de HAE) durante o período de tratamento para pacientes adolescentes no estudo de Fase 3 e seu OLE.

	Estudo de Fase 3									
		Lanadelumab								
	Placebo		150 mg q4s		300 mg q4s		300 mg q2s		Total	
N	4		1		3		2		6	
	n (%)	m	n (%)	m	n (%)	m	n (%)	m	n (%)	m
Qualquer TEAE	2 (50,0)	6	1 (100,0)	3	2 (66,7)	4	2 (100,0)	23	5 (83,3)	30
Qualquer relacionado TEAE	1 (25,0)	1	1 (100,0)	1	0 (0,0)	0	2 (100,0)	12	3 (50,0)	13
Qualquer sério	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	1 (50,0)	1	1	1

TEAE*									(16,7)	
Qualquer grave TEAE*	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	1 (50,0)	1	1 (16,7)	1
Hospitalizações devido a um TEAE	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	1 (50,0)	1	1 (16,7)	1

	Estudo de extensão					
	Lanadelumab					
	Pacientes Advindos de Fases Anteriores		Pacientes Não Advindos de Fases Anteriores		Total	
N	8		13		n (%)	
	n (%)	m	n (%)	m	n (%)	m
Qualquer TEAE	7 (87,5)	23	11 (84,6)	68	18 (85,7)	91
Qualquer TEAE relacionado	2 (25,0)	15	7 (53,8)	50	9 (42,9)	65
Qualquer TEAE* sério	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0
Qualquer TEAE* grave	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0
Hospitalizações devido a um TEAE	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0

HAE: angioedema hereditário; m = número de eventos; TEAE = evento adverso emergente do tratamento; q2s = a cada 2 semanas; q4s = a cada 4 semanas. TEAEs são mostrados durante o período de tratamento (dia 0 ao dia 182) para o estudo de fase 3. *No estudo de fase 3, nenhum TEAE sério ou grave foi relacionado ao lanadelumab. TEAEs sérios foram definidos como qualquer TEAE que resultou em morte, uma experiência com risco de vida, hospitalização não pré-planejada, deficiência/incapacidade persistente/significativa, um evento médico importante ou uma experiência que foi uma anomalia congênita/defeito de nascença. TEAEs sérios foram TEAEs classificados como graves (grau 3, levou a limitação marcada na atividade com alguma assistência geralmente exigida, intervenção médica/terapia exigida e/ou possível hospitalização) ou com risco de vida (grau 4, levou a limitação extrema na atividade com

assistência significativa exigida, intervenção médica/terapia significativa exigida e/ou provável hospitalização/cuidados paliativos) pelo investigador.

[00207] Em conclusão, a administração de lanadelumab foi bem tolerada e reduziu a taxa de ataque mensal em indivíduos adolescentes no estudo de Fase 3 e no estudo de extensão aberto.

OUTRAS MODALIDADES

[00208] Todos os recursos divulgados neste relatório descritivo podem ser combinados em qualquer combinação. Cada característica divulgada neste relatório descritivo pode ser substituída por uma característica alternativa que sirva para a mesma finalidade, equivalente ou semelhante. Deste modo, a menos que expressamente indicado de outra forma, cada característica divulgada é apenas um exemplo de uma série genérica de características equivalentes ou semelhantes.

[00209] A partir do relatório descritivo acima, um versado na técnica pode facilmente determinar as características essenciais da presente invenção, e sem desviar do espírito e escopo do mesmo, pode fazer diversas alterações e modificações da invenção para adaptá-la para diversos usos e condições. Deste modo, outras modalidades também estão dentro das reivindicações.

EQUIVALENTES

[00210] Várias modalidades inventivas têm sido descritas e ilustradas neste documento, aqueles versados na técnica irão prontamente perceber uma variedade de outros meios e/ou estruturas para realizar a função e/ou obter resultados e/ou um ou mais das vantagens descritas neste documento, e cada uma de tais variações e/ou modificações é considerado no âmbito das modalidades inventivas descritas neste documento. Mais geralmente, aqueles versados na técnica prontamente apreciarão que todos os parâmetros, dimensões, materiais e configurações descritos neste documento se destinam a ser exemplares, e que os parâmetros, dimensões, materiais e/ou configurações reais dependerão

mediante a aplicação ou aplicações específicas para as quais os ensinamentos da invenção são usados. Aqueles versados na técnica reconhecerão, ou serão capazes de determinar usando não mais do que experimentos de rotina, muitos equivalentes às modalidades específicas da invenção descritas neste documento. Portanto, deve-se entender que as modalidades anteriores são apresentadas a título de exemplo somente, e que, dentro do escopo das reivindicações em anexo e equivalentes destas, as modalidades da invenção podem ser praticadas de outra forma diferente daquela especificamente descrita e reivindicada. Modalidades da invenção da presente divulgação são direcionadas para cada característica, sistema, artigo, material, kit e/ou método individual descrito neste documento. Além disso, qualquer combinação de dois ou mais de tais características, sistemas, artigos, materiais, kits e/ou métodos, se tais características, sistemas, artigos, materiais, kits e/ou métodos não sejam mutuamente incompatíveis, está inclusa no escopo da invenção da presente divulgação.

[00211] Deve-se entender que todas as definições, conforme definidas e usadas neste documento, controlam as definições do dicionário, definições em documentos incorporados por referência e/ou significados comuns dos termos definidos.

[00212] Deve-se entender que os artigos indefinidos "um" e "uma", conforme usados neste documento no relatório descritivo e nas reivindicações, a menos que claramente indicado o contrário, significam "pelo menos um".

[00213] A frase "e/ou", conforme usado neste documento, no relatório descritivo e nas reivindicações, deve ser entendido como "um ou ambos" dos elementos em conjunto, ou seja, elementos que são conjunções presentes em alguns casos e disjuntivos presentes em outros casos. Múltiplos elementos listados com "e/ou" devem ser interpretados da mesma forma, ou seja, "um ou mais" dos elementos unidos dessa forma. Opcionalmente, outros elementos podem estar presentes, diferentes dos

elementos especificamente identificados pela construção "e/ou", sejam eles relacionados ou não relacionados àqueles elementos especificamente identificados. Deste modo, como um exemplo não limitante, uma referência a "A e/ou B", quando usada em conjunto com a linguagem aberta, tal como "compreendendo", pode se referir, em uma modalidade, apenas a A (opcionalmente incluindo elementos diferentes de B); em outra modalidade, apenas a B (opcionalmente incluindo elementos diferentes de A); em ainda outra modalidade, tanto a A quanto a B (opcionalmente incluindo outros elementos); etc.

[00214] Conforme usado neste documento no relatório descritivo e nas reivindicações, "ou" deve ser entendido como tendo o mesmo significado que "e/ou", como definido acima. Por exemplo, quando se separar itens em uma lista, "ou" ou "e/ou" devem ser interpretados como sendo inclusivos, ou seja, a inclusão de pelo menos um, mas também incluindo mais de um, dentre um número ou uma lista de elementos, e, opcionalmente, itens adicionais não listados. Apenas termos claramente indicando o contrário, tais como "apenas um dentre" ou "exatamente um dentre" ou quando usado nas reivindicações "consistindo em", referir-se-ão à inclusão de exatamente um elemento dentre um número ou lista de elementos. Em geral, o termo "ou", conforme usado neste documento, deverá ser interpretado apenas como indicando alternativas exclusivas (ou seja, "um ou o outro, mas não ambos") quando precedido por termos de exclusividade, tais como "um", "um dentre", "apenas um dentre" ou "exatamente um dentre". "Consistindo essencialmente em", quando usado nas reivindicações, terá seu significado comum usado no campo de leis patentárias.

[00215] Conforme usado neste documento no relatório descritivo e nas reivindicações, a frase "pelo menos um", em referência a uma lista de um ou mais elementos, deve-se entender pelo menos um elemento selecionado a partir de qualquer um ou mais dos elementos na lista de

elementos, mas não necessariamente incluindo pelo menos um de cada elemento especificamente listado dentro da lista de elementos e não excluindo quaisquer combinações de elementos na lista de elementos. Essa definição também permite que elementos diferentes dos elementos especificamente identificados dentro da lista de elementos aos quais a frase "pelo menos um" se refere, relacionados ou não relacionados àqueles elementos especificamente identificados, possam opcionalmente estar presentes. Deste modo, como um exemplo não limitante, "pelo menos um dentre A e B" (ou, de maneira equivalente, "pelo menos um dentre A ou B," ou, de maneira equivalente, "pelo menos um dentre A e/ou B") pode se referir, em uma modalidade, a pelo menos um, opcionalmente incluindo mais de um A, sem nenhum B presente (e opcionalmente incluindo elementos diferentes de B); em outra modalidade, a pelo menos um, opcionalmente incluindo mais de um B, sem nenhum A presente (e opcionalmente incluindo elementos diferentes de A); em ainda outra modalidade, a pelo menos um, opcionalmente incluindo mais de um A e pelo menos um, opcionalmente incluindo mais de um, B (e opcionalmente incluindo outros elementos); etc.

[00216] Deve-se entender também que, a menos que claramente indicado o contrário, em quaisquer métodos reivindicados neste documento que incluem mais de uma etapa ou ato, a ordem das etapas ou atos do método não é necessariamente limitada à ordem em que as etapas ou atos do método são citados.

[00217] Nas reivindicações, bem como no relatório descritivo acima, todas as frases de transição, tais como "compreendendo", "incluindo", "possuindo", "tendo", "contendo," "envolvendo", "mantendo", "composto de" e semelhantes devem ser entendidos como sendo abertos, ou seja, quer dizer incluindo, mas não limitado a. Apenas as frases de transição "consistindo em" e "consistindo essencialmente em" devem ser frases de transição fechadas ou semifechadas, respectivamente, conforme

definido no Manual de Procedimentos de Exame de Patentes do Escritório de Patentes dos Estados Unidos, seção 2111.03.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para tratar ataque de angioedema hereditário (HAE) ou reduzir a taxa de ataque de HAE, o método **caracterizado** pelo fato de que compreende:

administrar, a um indivíduo humano em necessidade do mesmo, um anticorpo compreendendo as mesmas regiões determinantes de complementaridade (CDRs) que DX-2930 para um primeiro período de tratamento;

em que, no primeiro período de tratamento, o anticorpo é administrado em doses múltiplas ao indivíduo humano em cerca de 300 mg a cada duas semanas; e

em que o indivíduo humano tem, é suspeito ter ou está em risco de ter HAE e é:

(i) do sexo feminino;

(ii) menor de 18 anos ou está entre as idades de 40 a 65 anos;

(iii) experimentou anteriormente pelo menos um ataque de HAE na laringe;

(iv) teve entre 1 e 2, 2 e 3, ou mais de 3 ataques de HAE nas quatro semanas anteriores à primeira dose do primeiro período de tratamento; e/ou

(v) recebeu tratamento com um inibidor de C1 antes do primeiro período de tratamento.

2. Método para tratar o ataque de angioedema hereditário (HAE) ou reduzir a taxa de ataque de HAE, o método **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar, a um indivíduo humano em necessidade do mesmo, um anticorpo compreendendo as mesmas regiões determinantes de complementaridade (CDRs) que DX-2930, em que o indivíduo humano é

(i) um(a) adolescente entre 12 e 18 anos; e/ou

(ii) teve entre 2 e 3, ou mais de 3 ataques de HAE nas quatro semanas anteriores à primeira dose do anticorpo; e

em que o anticorpo é administrado ao indivíduo humano em cerca de 150 mg a cada quatro semanas, a cerca de 300 mg a cada quatro semanas ou a cerca de 300 mg a cada duas semanas.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo é um anticorpo completo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

4. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia pesada estabelecida por SEQ ID NO: 3 e/ou uma região variável de cadeia leve estabelecida por SEQ ID NO: 4.

5. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 4, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada estabelecida por SEQ ID NO: 1 e uma região variável de cadeia leve estabelecida por SEQ ID NO: 2.

6. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo é formulado em uma composição farmacêutica compreendendo um carreador farmaceuticamente aceitável.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado** pelo fato de que a composição farmacêutica compreende fosfato de sódio, ácido cítrico, histidina, cloreto de sódio e polissorbato 80.

8. Método, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** pelo fato de que o fosfato de sódio está a uma concentração de cerca de 30 mM, o ácido cítrico está a uma concentração de cerca de 19 mM, a histidina está a uma concentração de cerca de 50 mM, o cloreto de sódio está a uma concentração de cerca de 90 mM e o polissorbato 80 está a cerca de 0,01%.

9. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 8, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo é administrado por via subcutânea.

10. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo humano tem HAE de tipo I ou II.

11. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 10, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo humano tenha sofrido pelo menos dois ataques de HAE por ano antes do primeiro período de tratamento.

12. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 11, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo humano recebeu um ou mais tratamentos de HAE anteriores antes do primeiro período de tratamento.

13. Método, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** pelo fato de que o tratamento de HAE anterior compreende um inibidor de C1, um inibidor de calicreína plasmática, um antagonista de receptor de bradicinina, um androgênio, um agente antifibrinolítico ou uma combinação dos mesmos.

14. Método, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado** pelo fato de que o tratamento de HAE anterior compreende um C1-INH, ecalantida, icatibanto, danazol, ácido tranexâmico ou uma combinação dos mesmos.

15. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 12 a 14, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende um período de redução gradual para o um ou mais dos tratamentos de HAE anteriores.

16. Método, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que o período de redução gradual é de cerca de 2 a 4 semanas.

17. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 12 a 16, **caracterizado** pelo fato de que o um ou mais dos tratamentos de HAE anteriores terminam antes da primeira dose do anticorpo ou dentro de três semanas após a primeira dose do anticorpo.

18. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 11, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo humano não obteve tratamento de HAE anterior.

19. Método, de acordo com a reivindicação 18, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo humano não obteve tratamento de HAE anterior pelo menos duas semanas antes da primeira dose do anticorpo.

20. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 19, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo humano teve pelo menos um ataque de HAE nas quatro semanas anteriores à primeira dose do primeiro período de tratamento, ou pelo menos dois ataques de HAE nas oito semanas anteriores à primeira dose do primeiro período de tratamento.

21. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 20, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende adicionalmente administrar ao indivíduo o anticorpo por um segundo período de tratamento após o primeiro período de tratamento.

22. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado** pelo fato de que a primeira dose do segundo período de tratamento é cerca de duas semanas após a última dose do primeiro período de tratamento.

23. Método, de acordo com a reivindicação 21 ou reivindicação 22, **caracterizado** pelo fato de que o segundo período de tratamento compreende uma ou mais doses do anticorpo a cerca de 300 mg.

24. Método, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizado** pelo fato de que o segundo período de tratamento compreende múltiplas doses do anticorpo a cerca de 300 mg a cada duas semanas.

25. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 24, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo humano não obteve uma profilaxia a longo prazo para HAE, ou um tratamento de HAE que envolva um inibidor da enzima conversora de angiotensina (ACE), uma medicação contendo estrogênio, ou um androgênio antes do primeiro período de

tratamento, durante o primeiro período de tratamento e/ou durante o segundo período de tratamento.

26. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 25, **caracterizado** pelo fato de que compreende adicionalmente:

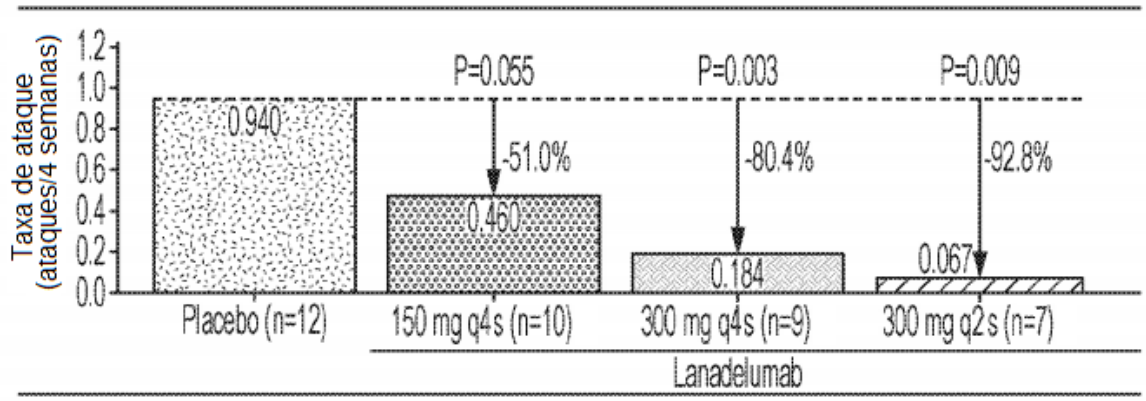
(a) administrar, a um indivíduo humano em necessidade do mesmo, um anticorpo em uma dose única de cerca de 300 mg após o primeiro período de tratamento; e

(b) administrar adicionalmente, ao indivíduo, o anticorpo em uma ou mais doses de cerca de 300 mg, se o indivíduo sofrer um ataque de HAE após (a).

27. Método, de acordo com a reivindicação 26, **caracterizado** pelo fato de que, na etapa (b), o anticorpo é administrado ao indivíduo em múltiplas doses a cerca de 300 mg a cada duas semanas.

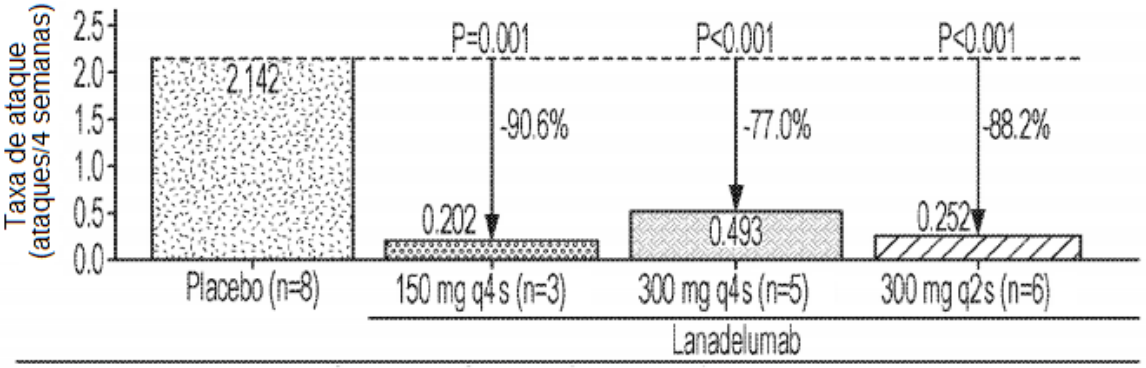
28. Método, de acordo com a reivindicação 27, **caracterizado** pelo fato de que a primeira dose da etapa (b) se dá dentro de uma semana após o ataque de HAE.

29. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 26 a 28, **caracterizado** pelo fato de que a dose única de (a) e a primeira dose de (b) são com pelo menos 10 dias entre si.



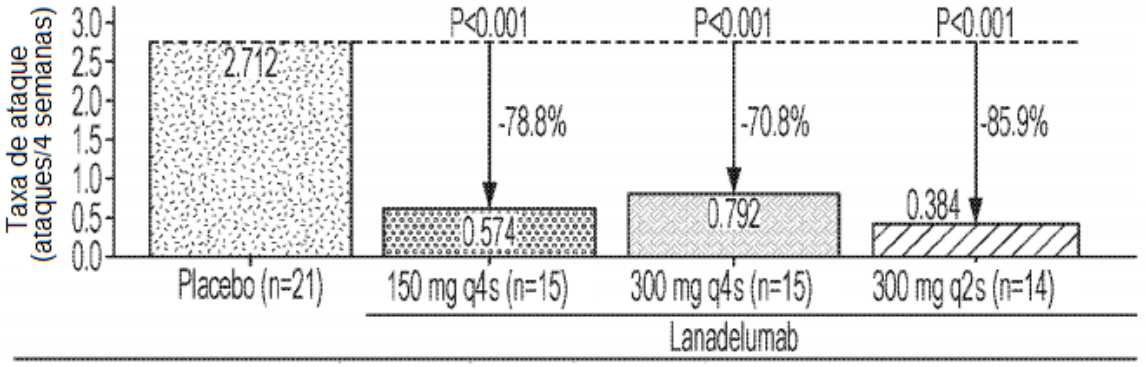
HAE = angioedema hereditário; q2s = a cada 2 semanas; q4s = a cada 4 semanas

FIG. 1A



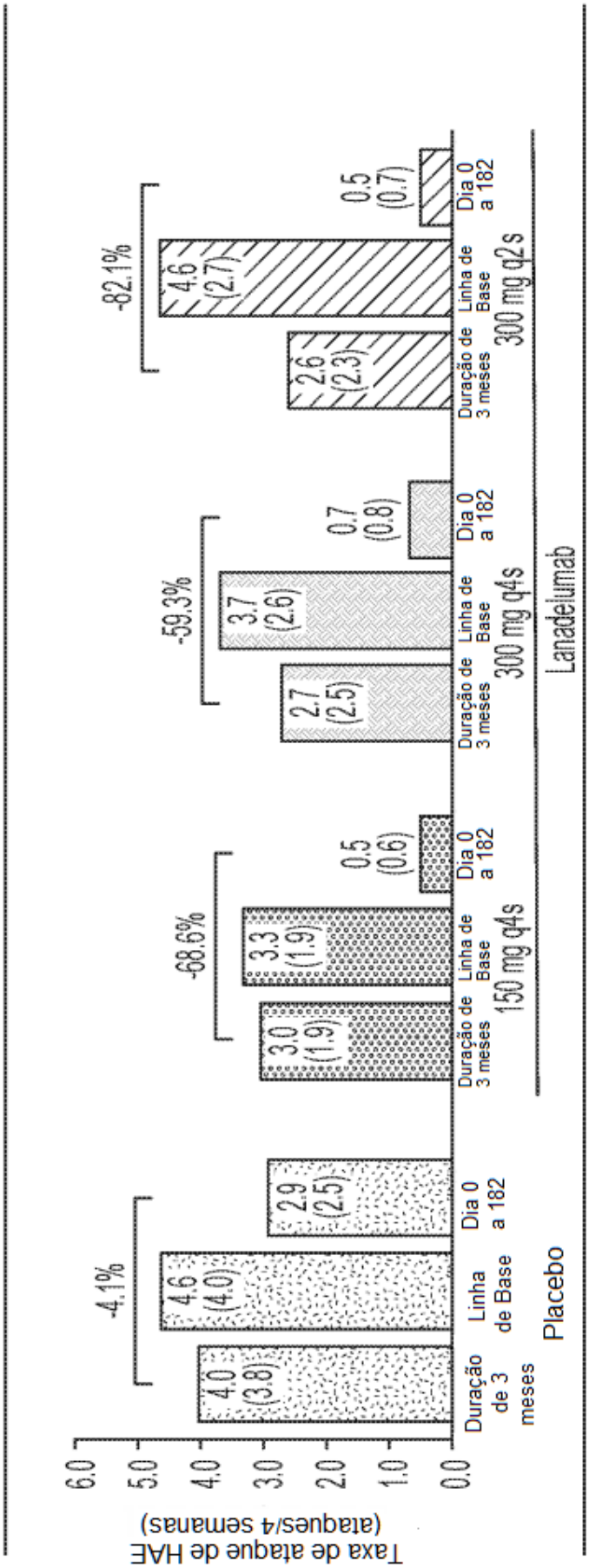
HAE = angioedema hereditário; q2s = a cada 2 semanas; q4s = a cada 4 semanas

FIG. 1B



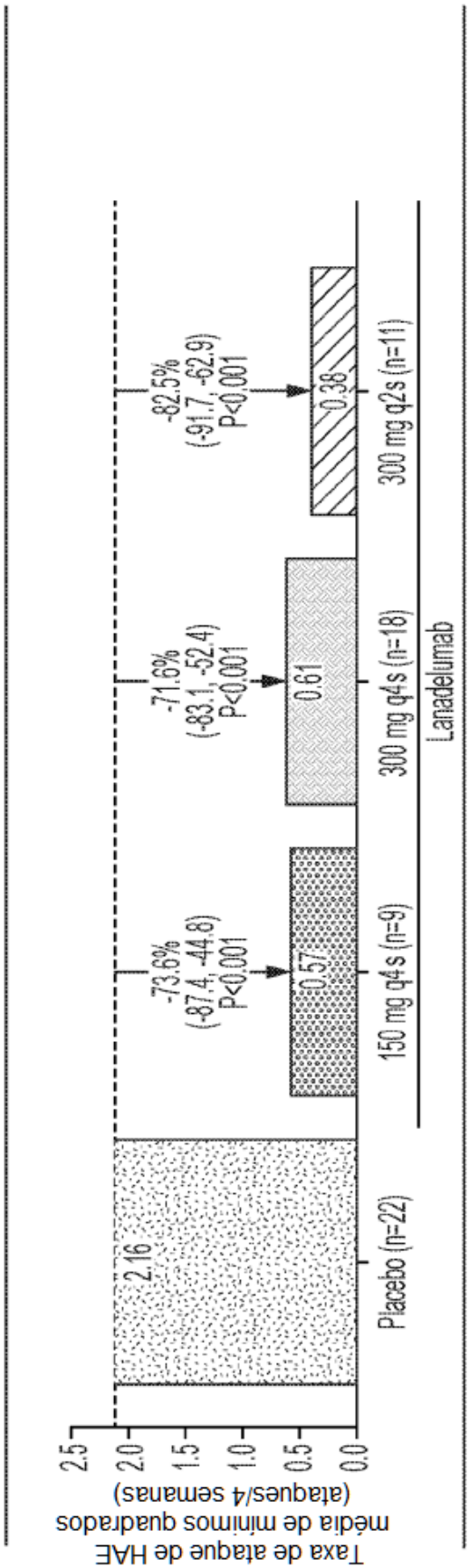
HAE = angioedema hereditário; q2s = a cada 2 semanas; q4s = a cada 4 semanas

FIG. 1C



C1-INH = inibidor de C1; HAE = angioedema hereditário; LTP = profilaxia de longo prazo; q2s = a cada duas semanas; q4s = a cada 4 semanas. O percentual acima da barra indica diferença na taxa de ataques durante o tratamento em relação à taxa de ataque histórica.

FIG. 2A



C1-INH = inibidor de C1; HAE = angioedema hereditário; LTP = profilaxia de longo prazo; q2s = a cada duas semanas; q4s = a cada 4 semanas. Os Valores nas barras são as médias dos mínimos quadrados estimados a partir da regressão de Poisson para o número de ataques por mês (28 dias). Os percentuais são a redução na taxa de ataque em comparação com o placebo.

FIG. 2B

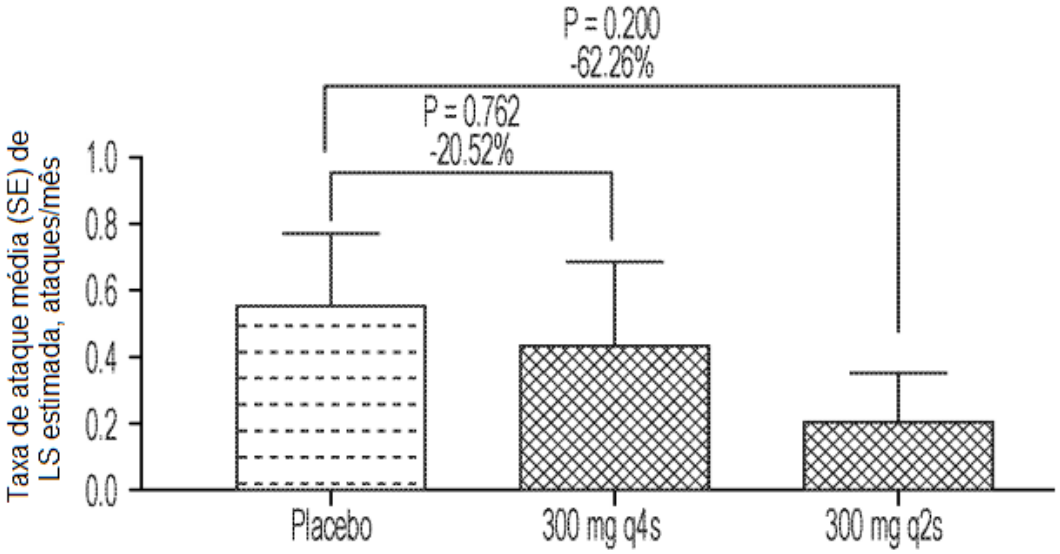

P = 0.200
-62.26%
P = 0.762
-20.52%
Taxa de ataque média (SE) de LS estimada, ataques/mês
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
Placebo
300 mg q4s
300 mg q2s

FIG. 3A

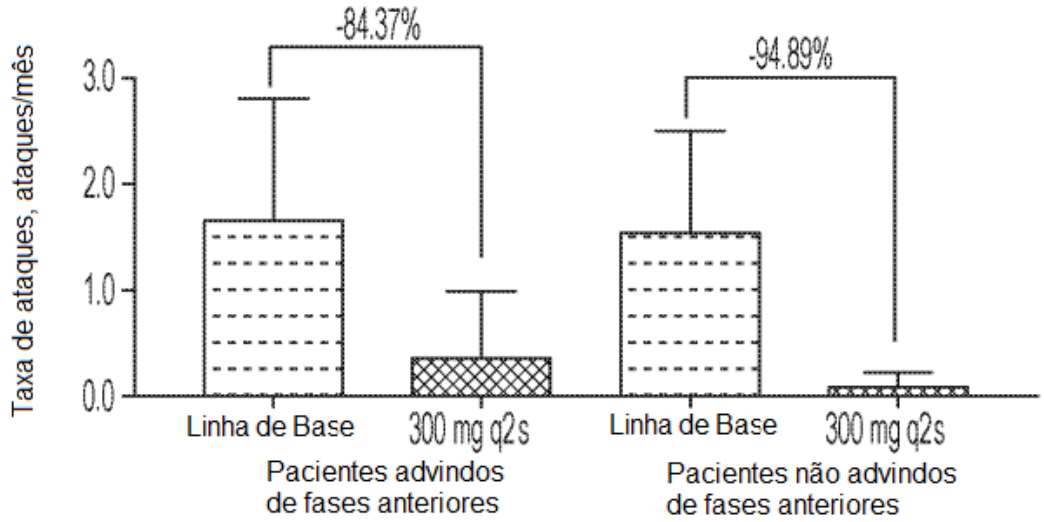

-84.37%
-94.89%
Taxa de ataques, ataques/mês
3.0
2.0
1.0
0.0
Linha de Base
300 mg q2s
Linha de Base
300 mg q2s
Pacientes advindos de fases anteriores
Pacientes não advindos de fases anteriores

FIG. 3B

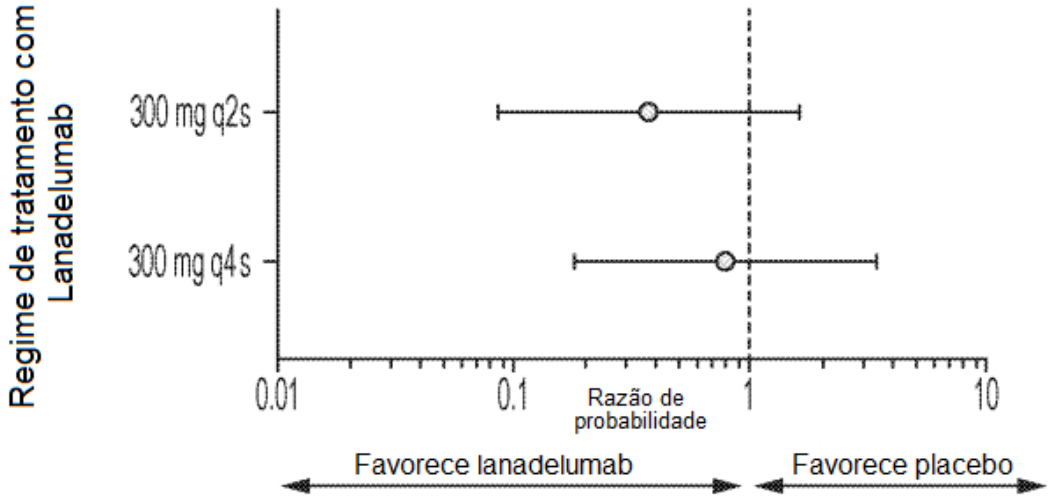

Regime de tratamento com Lanadelumab
300 mg q2s
300 mg q4 s
0.01
0.1
Razão de probabilidade
1
10
Favorece lanadelumab
Favorece placebo

FIG. 3C

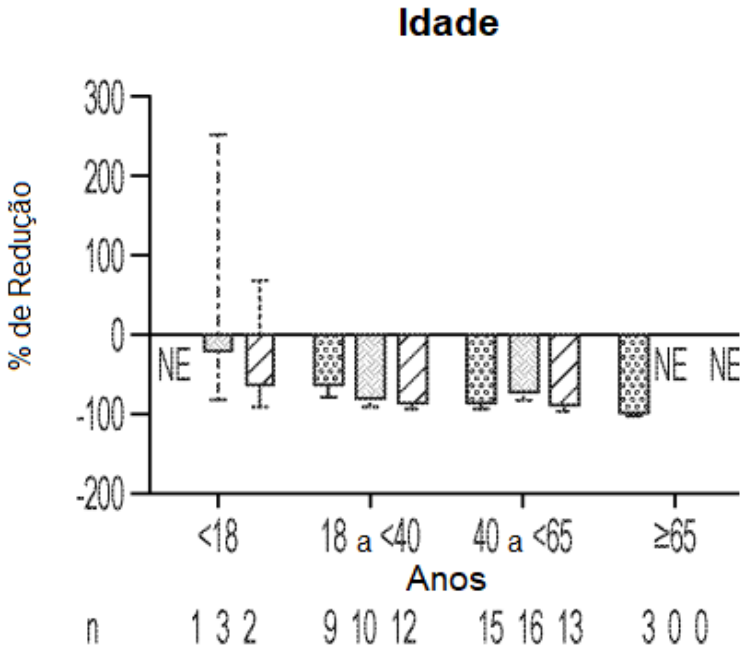

Idade
% de Redução
300
200
100
0
-100
-200
NE
NE
NE
<18
18 a <40
40 a <65
≥65
Anos
n
1 3 2
9 10 12
15 16 13
3 0 0

FIG. 4A

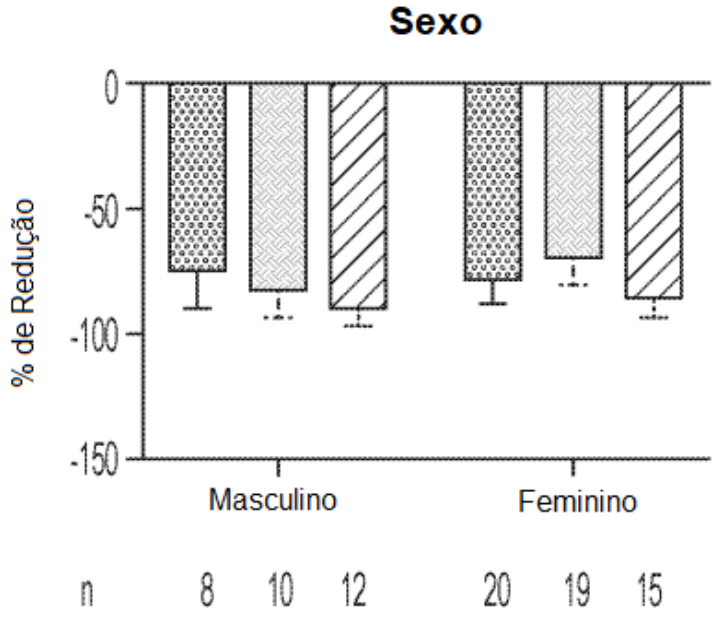

Sexo
% de Redução
0
-50
-100
-150
Masculino
Feminino
n
8
10
12
20
19
15

FIG. 4B

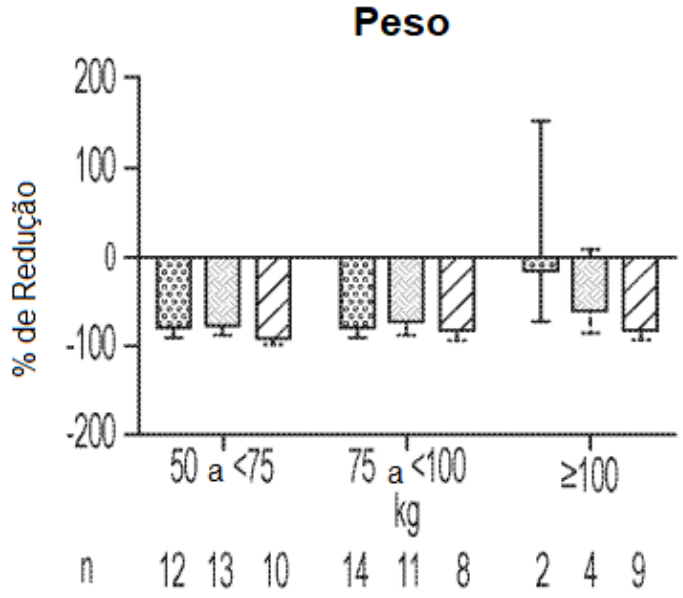

Peso
% de Redução
200
100
0
-100
-200
50 a <75
75 a <100
≥100
kg
n
12 13 10 14 11 8 2 4 9

FIG. 4C

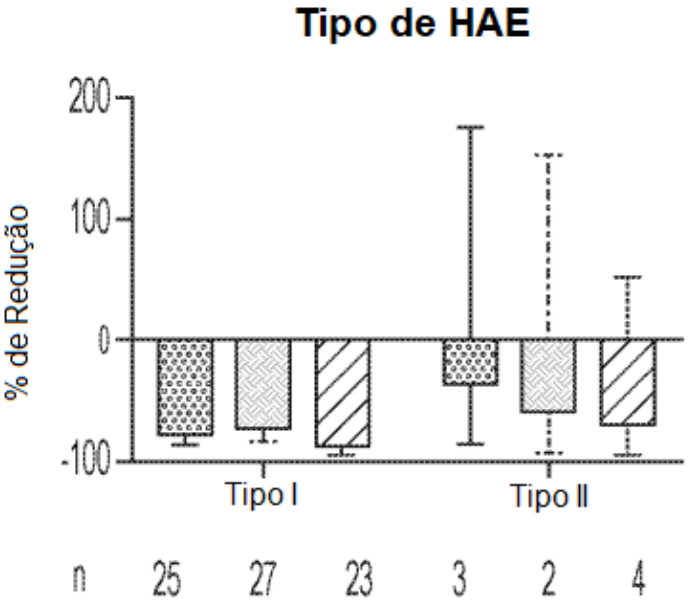

Tipo de HAE
% de Redução
200
100
0
-100
Tipo I
Tipo II
n
25 27 23 3 2 4

FIG. 4D

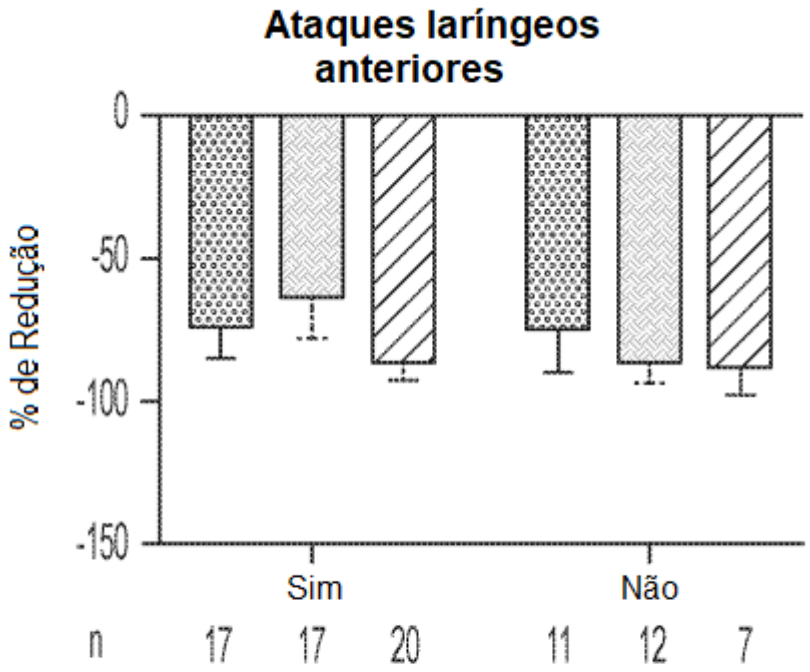

Ataques laríngeos anteriores
% de Redução
0
-50
-100
-150
Sim
Não
n
17
17
20
11
12
7

FIG. 4E

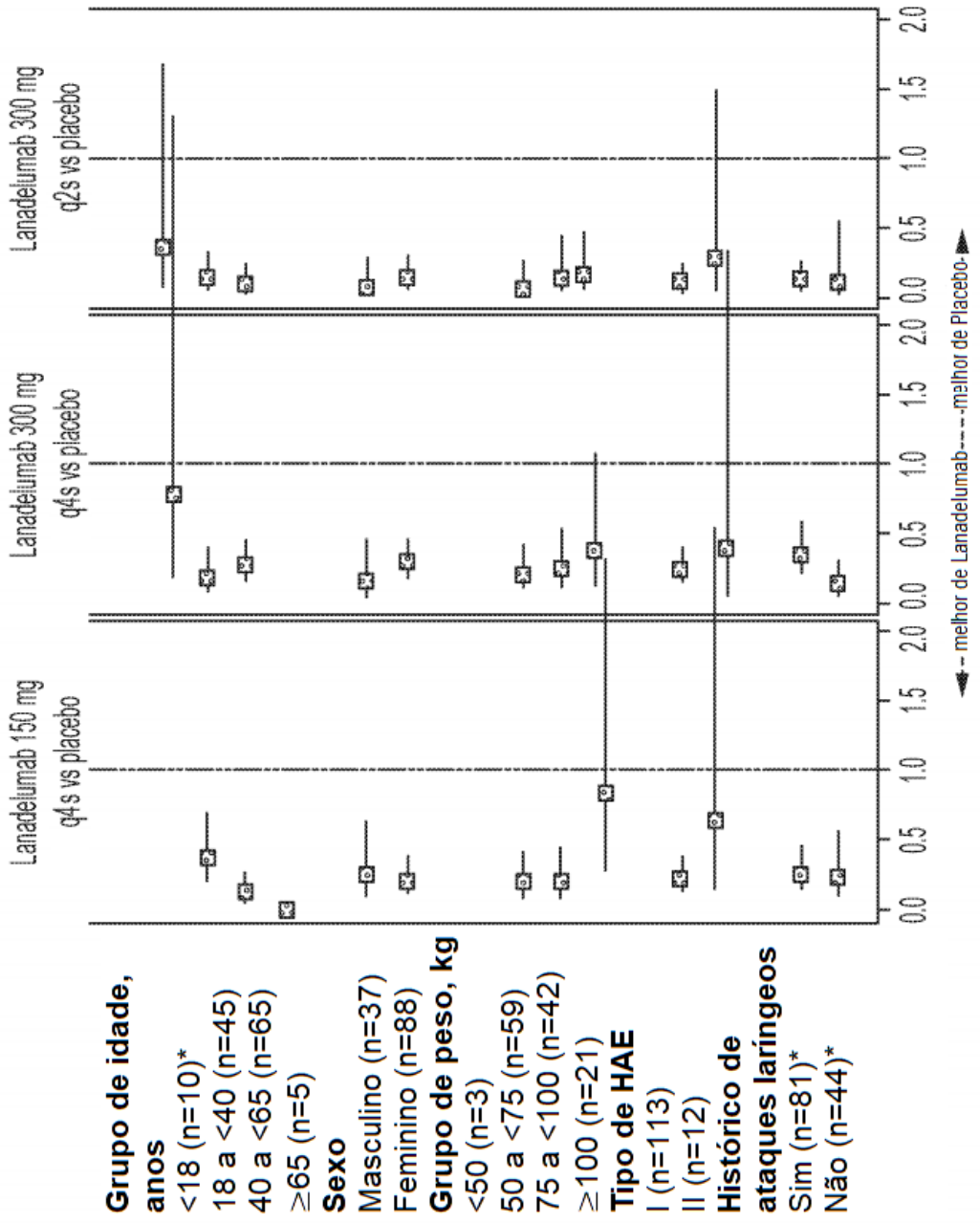

Lanadelumab 150 mg q4 s vs placebo
Lanadelumab 300 mg q4s vs placebo
Lanadelumab 300 mg q2s vs placebo
0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 0.0 0.5 1.0 1.5 2.0
← melhor de Lanadelumab - - - melhor de Placebo →
Grupo de idade, anos
<18 (n=10)*
18 a <40 (n=45)
40 a <65 (n=65)
≥65 (n=5)
Sexo
Masculino (n=37)
Feminino (n=88)
Grupo de peso, kg
<50 (n=3)
50 a <75 (n=59)
75 a <100 (n=42)
≥100 (n=21)
Tipo de HAE
I (n=113)
II (n=12)
Histórico de ataques laríngeos
Sim (n=81)*
Não (n=44)*

FIG. 5

RESUMO

MÉTODO PARA TRATAR ATAQUE DE ANGIOEDEMA HEREDITÁRIO (HAE) OU REDUZIR A TAXA DE ATAQUE DE HAE

São providos neste documento métodos para tratar e prevenir ataques de angioedema hereditário em certas subpopulações de pacientes humanos usando ligação de anticorpos à calicreína plasmática ativa com regimes de tratamento específicos, por exemplo, a cerca de 300 mg a cada duas semanas. As subpopulações de pacientes humanos exemplares incluem pacientes do sexo feminino, pacientes com menos de 18 anos, entre 40 e menos de 65 anos, pacientes adolescentes, pacientes que tiveram um ou mais ataques laríngeos anteriores, pacientes que tiveram entre 1 e 2, 2 e 3, ou mais de 3 ataques de HAE nas quatro semanas anteriores à primeira dose do primeiro período de tratamento; e/ou receberam tratamento com um inibidor de C1 antes do primeiro período de tratamento.

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

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: PP13479 - Listagem de Sequências_RevLT.txt
- Data de Geração do Código: 19/04/2021
- Hora de Geração do Código: 17:36:19
- Código de Controle:
  - Campo 1: 78AF631C1BFCD721
  - Campo 2: 0642EDC6EA1B93CA