



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 974 107**

⑮ Int. Cl.:

C07K 7/06 (2006.01)
C07K 7/50 (2006.01)
C07K 7/64 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
A61K 38/04 (2006.01)
A61K 38/12 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- ⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.10.2016** PCT/US2016/056144
⑦ Fecha y número de publicación internacional: **13.04.2017** WO17062879
⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2016** E 16854499 (7)
⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.12.2023** EP 3359555

⑮ Título: **Regímenes de dosificación**

⑩ Prioridad:

07.10.2015 US 201562238529 P
08.08.2016 US 201662372259 P

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.06.2024

⑮ Titular/es:

APELLIS PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
100 5th Avenue
Waltham, MA 02451, US

⑮ Inventor/es:

GROSSI, FEDERICO;
DESCHATELETS, PASCAL y
FRANCOIS, CEDRIC

⑮ Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 974 107 T3

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

DESCRIPCIÓN

Regímenes de dosificación

5 **Antecedentes**

El complemento es un sistema que consta de más de 30 proteínas plasmáticas y unidas a células que desempeña un papel importante en la inmunidad tanto innata como adaptativa. Las proteínas del sistema del complemento actúan en una serie de cascadas enzimáticas mediante diversas interacciones de proteínas y acontecimientos de escisión. La 10 activación del complemento se produce a través de tres rutas principales: la ruta clásica dependiente de anticuerpos, la ruta alternativa y la ruta de lectina de unión a manosa (MBL). La activación inadecuada o excesiva del complemento es una causa subyacente o un factor que contribuye a varias enfermedades y afecciones graves y en las últimas 15 décadas se ha dedicado un esfuerzo considerable a explorar diversos inhibidores del complemento como agentes terapéuticos.

15 **Sumario**

La invención proporciona un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) para su uso en el tratamiento de 20 un trastorno ocular mediado por el complemento en un sujeto que lo necesite, en donde:

- (a) dicho ACAP consiste en un resto reductor del aclaramiento unido a dos restos de análogo de compstatina, en donde cada resto de análogo de compstatina consiste en un péptido cíclico que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 28 extendida por un resto de lisina en el extremo C, en donde el resto de lisina está separado de la porción cíclica del péptido por un espaciador de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEAc); el resto reductor del aclaramiento comprende un polímero, en donde cada extremo del polímero está unido al grupo amino de la cadena lateral del resto de lisina de uno de los restos de análogo de compstatina mediante un carbamato, en donde el polímero es PEG que tiene un peso molecular promedio de 40 kD; y
 25 (b) dicho trastorno ocular mediado por el complemento es degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), opcionalmente atrofia geográfica o DMAE intermedia; y
 30 (c) dicho uso comprende administrar por vía intravítreo el análogo de compstatina de acción prolongada a un ojo del sujeto en una cantidad de entre 10 mg y 20 mg, opcionalmente en donde la cantidad es 15 mg.

El análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) puede administrarse por vía intravítreo mensualmente o cada 35 dos meses. El ACAP puede administrarse al sujeto en forma de una composición que comprende dicho ACAP a una concentración de 100 a 200 mg/ml, por ejemplo, a una concentración de 150 mg/ml. El ACAP puede administrarse al ojo del sujeto en un volumen de 90 a 150 µl, por ejemplo, en un volumen de 100 µl.

También se proporciona una dosis unitaria de un análogo de compstatina de acción prolongada para su uso en el 40 tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento en un sujeto que lo necesite, en donde:

- (a) dicho ACAP consiste en un resto reductor del aclaramiento unido a dos restos de análogo de compstatina, en donde cada resto de análogo de compstatina consiste en un péptido cíclico que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 28 extendida por un resto de lisina en el extremo C, en donde el resto de lisina se separa de la porción cíclica del péptido por un espaciador de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEAc); el resto reductor del aclaramiento comprende un polímero, en donde cada extremo del polímero está unido al grupo amino de la cadena lateral del resto de lisina de uno de los restos de análogo de compstatina mediante un carbamato, en donde el polímero es PEG que tiene un peso molecular promedio de 40 kD; y
 45 (b) dicho trastorno ocular mediado por el complemento es degeneración macular asociada a la edad (DMAE), opcionalmente atrofia geográfica o DMAE intermedia; y
 50 (c) la dosis unitaria es para administración intravítreo y la cantidad de dicha dosis unitaria es de entre 10 mg y 20 mg, opcionalmente 20 mg, y dicho uso comprende administrar dicha dosis unitaria a un ojo de dicho sujeto.

La dosis unitaria puede comprender además un vehículo farmacéuticamente aceptable. La concentración del ACAP en la dosis unitaria puede ser de 100 a 200 mg/ml, por ejemplo, la concentración puede ser de 150 mg/ml.

55 El ACAP o la dosis unitaria puede administrarse usando una aguja del calibre 27 u opcionalmente, usando una aguja del calibre 25, u opcionalmente usando una aguja del calibre 26, u opcionalmente usando una aguja del calibre 28, u opcionalmente usando una aguja del calibre 29. La aguja puede ser una aguja de paredes finas.

60 El ACAP puede comprender el compuesto ilustrado en la figura 10(C).

Breve descripción de los dibujos

65 La figura 1 es un gráfico que muestra el porcentaje de actividad inhibidora de la activación del complemento del análogo de compstatina CA28 (SEQ ID NO: 28) y tres análogos de compstatina de acción prolongada (CA28-1, CA28-2, CA28-3), en función de la concentración de péptidos (µM). Se probó la inhibición de la activación del

complemento *in vitro* usando un ensayo clásico de inhibición del complemento. El diagrama muestra los valores obtenidos promediando los resultados de dos conjuntos de mediciones. CA28 (círculos; rojo), CA28-1 (cruces (x); azul); CA28-2 (triángulos, verde), CA28-3 (cuadrados, morado).

La **figura 2** es un diagrama que muestra el porcentaje de actividad inhibidora de la activación del complemento de CA28 y los análogos de compstatina de acción prolongada CA28-2 y CA28-3, en función de la concentración del compuesto (μM). CA28 (cuadrados, gris claro), CA28-2 (rombos, negro), CA28-3 (círculos, gris oscuro). CA28-3 es un compuesto que contiene múltiples restos peptídicos. Aunque la actividad por resto peptídico es menor que la actividad de una molécula de CA28 individual, la actividad total de CA28-3 supera la actividad de CA28 en molaridad.

La **figura 3** es un diagrama que muestra las concentraciones en plasma frente al tiempo de CA28 y los análogos de compstatina de acción prolongada CA28-2 y CA28-3 en monos cinomolgos después de una única inyección intravenosa. CA28 se administró a 200 mg/kg. CA28-2 y CA28-3 se administraron cada uno a 50 mg/kg. Al calcular las dosis para estos experimentos, se supuso que la sustancia administrada de CA28-2 y CA28-3 consistía en 80 % del compuesto activo p/p en función del peso seco. Sin embargo, durante el análisis de la muestra, la curva patrón supuso un 100 % del compuesto activo p/p en función del peso seco, en una estimación del 30 %. Por tanto, los valores para Cmáx sobreestiman la Cmáx real. CA28 (cuadrados, gris claro), CA28-2 (triángulos, negro), CA28-3 (círculos, gris oscuro).

La **figura 4** es un diagrama que muestra el porcentaje de actividad inhibidora de la activación del complemento de CA28 y el análogo de compstatina de acción prolongada CA28-4, en función de la concentración del compuesto (μM). Se probó la inhibición de la activación del complemento *in vitro* usando un ensayo clásico de inhibición del complemento. El diagrama muestra los valores obtenidos promediando los resultados de cuatro conjuntos de mediciones para CA28-4. CA28 (cuadrados, gris claro), CA28-4 (cruces, negro).

La **figura 5** es un gráfico que muestra las concentraciones frente al tiempo de CA28 y los análogos de compstatina de acción prolongada CA28-2, CA28-3 y CA28-4 en monos cinomolgos después de una única inyección intravenosa. CA28 se administró a 200 mg/kg. CA28-2, CA28-3 y CA28-4 se administraron cada uno a 50 mg/kg. Al calcular las dosis para estos experimentos, se supuso que la sustancia administrada de CA28-2 y CA28-3 consistía en 80 % del compuesto activo p/p en función del peso seco. Sin embargo, durante el análisis de la muestra, la curva patrón supuso un 100 % del compuesto activo p/p en función del peso seco. Por tanto, los valores para la Cmáx sobreestiman la Cmáx que se alcanzaría si estos compuestos se hubieran administrado a las dosis indicadas en masa seca, en una estimación del 30 %. CA28 (cuadrados, gris claro), CA28-2 (triángulos, negro), CA28-3 (círculos, gris oscuro), CA28-4 (triángulos invertidos, negro).

La **figura 6** es un cromatograma representativo que muestra la detección ultravioleta (UV) de un análogo de compstatina de acción prolongada basado en PEG usando HPLC de fase inversa. El pico con un tiempo de retención (TR) de 33,68 minutos representa el análogo de compstatina PEGilado y tenía un área relativa del 96 %.

La **figura 7** es un diagrama que muestra el porcentaje de actividad inhibidora de la activación del complemento de CA28 y los análogos de compstatina de acción prolongada CA28-2CS, CA28-2GS, CA28-2HS y CA28-2TS, en función de la concentración del compuesto (μM). CA28-2CS (rombos, rojo); CA28-2GS (cruces, azul); CA28-2HS (triángulos, verde); CA28-2TS (cuadrados, negro).

La **figura 8** es un diagrama que muestra el porcentaje de actividad inhibidora de la activación del complemento de CA28 y el análogo de compstatina de acción prolongada bifuncionalizado, CA28-2GS-BF, en función de la concentración del compuesto (micromoles). CA28 (círculos vacíos, azul); CA28-2G-SBF (círculos llenos, rojo)

La **figura 9** es un diagrama que muestra la concentración en plasma frente al tiempo de CA28 y el análogo de compstatina de acción prolongada CA28-2GS-BF en monos cinomolgos después de una única inyección intravenosa (CA28 (cuadrados, rojo) y CA28-2GS-BF (círculos, morado) o cuando se administran mediante inyección subcutánea una vez al día durante 7 días (solo CA28-2GS-BF, asteriscos, azul). Se administró CA28-2GSBF a 25 mg/ml. El volumen de dosificación fue de 2 ml/kg para IV y 0,28 ml/kg/día para la administración subcutánea. Los datos para CA28 fueron de un experimento diferente en el que el compuesto también estaba en dextrosa al 5 % y se formuló como 20 mg/ml con un volumen de dosificación de 10 ml/kg. El vehículo en cada caso fue dextrosa al 5 % en agua.

Las **figuras 10(A) y 10(B)** presentan diagramas que muestran el porcentaje de actividad inhibidora de la activación del complemento de CA28 y el análogo de compstatina de acción prolongada bifuncionalizado, CA28-2TS-BF, en función de la concentración del compuesto (micromoles). (A) Inhibición de la ruta clásica por CA28 (círculos, rojo) y CA28-2TS-BF (cruces, azul). (B) Inhibición de rutas alternativas. CA28 (círculos, rojo) y CA28-2TS-BF (cruces, azul).

La **figura 10(C)** (suponiendo un resto de PEG de 40 kD) muestra la estructura de CA28-2TS-BF.

La **figura 11** es un diagrama que muestra la concentración en plasma frente al tiempo de CA28 y el análogo de compstatina de acción prolongada CA28-2TS-BF en monos cinomolgos después de una única inyección intravenosa de CA28 a 200 mg/kg (cuadrados, rojo), una única inyección intravenosa de CA28-2TS-BF a 7 mg/kg (asteriscos, morado), inyección subcutánea de CA28-2TS-BF a 7 mg/kg una sola vez (círculos, azul) o inyección subcutánea de CA28-2TS-BF a 7 mg/kg una vez al día durante 7 días consecutivos (triángulos invertidos, verde). El vehículo en cada caso fue dextrosa al 5 % en agua.

La **figura 12** muestra el análisis de citometría de flujo del depósito de C3 en glóbulos rojos de un paciente con HPN, que se expusieron al complemento activado en una prueba de Ham modificada. (A) Se muestran los resultados de un experimento de dilución que demuestra el efecto de CA28 sobre el depósito de C3. (B) Se muestran los resultados de un experimento de dilución que demuestra el efecto de CA28-2GS-BF sobre el depósito de C3. Las concentraciones de compuesto usadas se muestran en y encima de cada panel.

La **figura 13** muestra el análisis de citometría de flujo del depósito de C3 en glóbulos rojos de un paciente con HPN, que se expusieron al complemento activado en una prueba de Ham modificada en ausencia de inhibidores del complemento (panel izquierdo), en presencia del anticuerpo monoclonal anti-C5 eculizumab (panel central) y en presencia de CA28-2GS-BF (panel derecho).

5 La **figura 14** muestra una gráfica de la hemólisis inducida en suero *ex vivo* observada en un ensayo con dosis múltiples ascendentes de un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un PEG de 40 kD en sujetos sanos.

Descripción detallada de determinadas realizaciones de la invención

10 La práctica de determinados aspectos descritos en el presente documento puede emplear técnicas convencionales de biología molecular, cultivo celular, tecnología de ácidos nucleicos recombinantes (p. ej., ADN), inmunología y/o síntesis de ácido nucleico y polipéptidos, detección, manipulación y cuantificación, etc., que están dentro de la experiencia habitual de la técnica. Véase, p. ej., Ausubel, F., *et al.*, (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, *Current Protocols in Immunology*, *Current Protocols in Protein Science* y *Current Protocols in Cell Biology*, todos John Wiley & Sons, N.Y., p. ej., edición vigente en enero de 2010 o posterior; Sambrook, Russell y Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3^a ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 2001 o 4^a ed., 2012.

I. Definiciones

20 Las expresiones "aproximadamente" o "alrededor de" en referencia a un número incluyen en general números que se encuentran dentro de $\pm 10\%$, en algunas realizaciones $\pm 5\%$, en algunas realizaciones $\pm 1\%$, en algunas realizaciones $\pm 0,5\%$ del número salvo que se indique lo contrario o sea evidente de otro modo por el contexto (excepto cuando dicho número superara de manera inadmisible el 100 % de un valor posible).

25 Un "componente del complemento" o "proteína del complemento" es una proteína que está implicada en la activación del sistema del complemento o participa en una o más actividades mediadas por el complemento. Los componentes de la ruta del complemento clásica incluyen, p. ej., C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9 y el complejo C5b-9, también denominado complejo de ataque a la membrana (MAC) y fragmentos activos o productos de escisión enzimática de cualquiera de los anteriores (p. ej., C3a, C3b, C4a, C4b, C5a, etc.). Los componentes de la ruta alternativa incluyen, p. ej., factores B, D y properdina. Los componentes de la ruta de lectina incluyen, p. ej., MBL2, MASP-1 y MASP-2. Los componentes del complemento también incluyen receptores unidos a células para componentes del complemento solubles, en donde dicho receptor media en una o más actividades biológicas de dicho componente del complemento soluble después de la unión del componente del complemento soluble. Dichos receptores incluyen, p. ej., receptor de C5a (C5aR), receptor de C3a (C3aR), receptor del complemento 1 (CR1), receptor del complemento 2 (CR2), receptor del complemento 3 (CR3, también conocido como CD45), etc. Se apreciará que no se pretende que la expresión "componente del complemento" incluya las moléculas y estructuras moleculares que actúan como "desencadenantes" para la activación del complemento, p. ej., complejos de antígeno-anticuerpo, estructuras extrañas halladas en superficies microbianas o artificiales, etc.

40 Un "trastorno mediado por el complemento" es cualquier trastorno en el que se sabe o se sospecha que la activación del complemento es un factor contribuyente y/o al menos parcialmente causante en al menos algunos sujetos que padecen el trastorno, p. ej., trastornos en los que la activación del complemento da como resultado daño tisular. Los ejemplos no limitantes de trastornos mediados por el complemento incluyen, pero sin limitación, (i) diversos trastornos 45 caracterizados por hemólisis o anemia hemolítica, tales como el síndrome hemolítico urémico atípico, la enfermedad de las aglutininas frías, la hemoglobinuria paroxística nocturna, reacciones a la transfusión; (ii) el rechazo de trasplante (p. ej., rechazo de trasplante hiperagudo o agudo) o disfunción del trasplante; (iii) trastornos que cursan con lesiones por isquemia/reperfusión, tales como traumatismo, cirugía (p. ej., reparación de aneurismas), infarto de miocardio, 50 ictus isquémico; (iv) trastornos del sistema respiratorio tales como el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); (v) artritis, p. ej., artritis reumatoide; (vi) trastornos oculares tales como la degeneración macular asociada a la edad (DMAE), retinopatía diabética, glaucoma y uveítis. "Trastorno" se usa indistintamente en el presente documento con "enfermedad", "afección" y palabras similares para hacer referencia a cualquier deterioro de la salud o estado de funcionamiento anómalo de un organismo, p. ej., cualquier estado en el que esté indicado el tratamiento médico y/o quirúrgico o para el que un sujeto busque de manera adecuada atención médica y/o quirúrgica. También 55 debe entenderse que la enumeración de un trastorno particular dentro de una categoría particular es por conveniencia y no se pretende que limite la invención. Se entenderá que determinados trastornos podrían enumerarse adecuadamente en múltiples categorías.

60 Una "proteína reguladora del complemento" es una proteína implicada en la regulación de la actividad del complemento. Una proteína reguladora del complemento puede regular negativamente la actividad del complemento mediante, p. ej., inhibición de la activación del complemento o mediante inactivación o aceleración de la descomposición de una o más proteínas del complemento activadas. Los ejemplos de proteínas reguladoras del complemento incluyen inhibidor de C1, proteína de unión a C4, clusterina, vitronectina, FHC, factor I y las proteínas unidas a células CD46, CD55, CD59, CR1, CR2 y CR3.

65 "Aislado", como se usa en el presente documento, significa 1) separado de al menos algunos de los componentes con

los que habitualmente está asociado en la naturaleza; 2) preparado o purificado por un proceso que implica la mano del hombre; y/o 3) que no se aparece en la naturaleza, p. ej., presente en un ambiente artificial. En general, salvo que se indique lo contrario o sea claramente evidente, cualquier entidad, producto, agente, composición, etc., puede considerarse "aislado", si se desea.

5 "Unidos", como se usa en el presente documento con respecto a dos o más restos, significa que los restos están físicamente asociados o conectados entre sí para formar una estructura molecular que es suficientemente estable para que los restos permanezcan asociados en las condiciones en que se forma el enlace y, preferentemente, en las condiciones en las que se usa la nueva estructura molecular, p. ej., condiciones fisiológicas. Un enlace es preferiblemente un enlace covalente. Un enlace puede ser no covalente. Los restos pueden estar unidos directa o indirectamente. Cuando dos restos están unidos directamente, estos están enlazados covalentemente entre sí o están lo suficientemente cerca para que las fuerzas intermoleculares entre los dos restos mantengan su asociación. Cuando dos restos están unidos indirectamente, cada uno de ellos está unido covalente o no covalentemente con un tercer resto, que mantiene la asociación entre los dos restos. En general, cuando dos restos se denominan unidos por un "resto de unión" o "parte de unión", el enlace entre los dos restos unidos es indirecto y normalmente cada uno de los restos unidos está enlazado covalentemente con el resto de unión. Se pueden unir dos restos usando un "conector". Un conector puede ser cualquier resto adecuado que reaccione con las entidades para unir dentro de un periodo de tiempo razonable, en condiciones compatibles con la estabilidad de las entidades (partes de las cuales pueden protegerse según sea adecuado, dependiendo de las condiciones) y en cantidad suficiente, para producir un rendimiento razonable. Normalmente, el conector contendrá al menos dos grupos funcionales, uno de los cuales reacciona con una primera entidad y el otro de los cuales reacciona con una segunda entidad. Se apreciará que, después de que el conector haya reaccionado con las entidades para unir, el término "conector" puede referirse a la parte de la estructura resultante que se originó a partir del conector o al menos la parte que no incluye los grupos funcionales que han reaccionado. Un resto de unión puede comprender una parte que no participa en un enlace con las entidades que se unen y cuyo fin principal puede ser separar espacialmente las entidades entre sí. Dicha parte puede denominarse "espaciador".

Como se usa en el presente documento, "condiciones fisiológicas" se refiere a un conjunto de condiciones tales como temperatura, concentración de sal y pH que al menos en parte imitan las condiciones que se encuentran normalmente en un sujeto vivo, p. ej., un sujeto mamífero. En algunos aspectos, las condiciones fisiológicas se refieren a condiciones en un medio acuoso, p. ej., un medio que comprende al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 99 % o aproximadamente 100 % de agua en volumen/volumen. Otros líquidos, si están presentes, normalmente no afectan sustancialmente a la estructura secundaria o terciaria de la proteína. Habitualmente, las condiciones fisiológicas imitan al menos en parte las halladas en un líquido corporal tal como sangre o líquido extracelular, p. ej., líquido intersticial, p. ej., de un sujeto mamífero. Se conocen en la técnica diversas condiciones fisiológicas útiles para, p. ej., ensayos *in vitro*. En general, un medio en condiciones fisiológicas contiene una concentración fisiológica de sal, p. ej., cloruro de sodio. Una concentración fisiológica de sal se refiere normalmente a una concentración que varía de aproximadamente 250 mOsm/l a aproximadamente 350 mOsm/l, p. ej., de aproximadamente 275 mOsm/l a aproximadamente 325 mOsm/l, p. ej., aproximadamente 300 mOsm/l. Normalmente, las condiciones fisiológicas son aproximadamente isotónicas para un líquido corporal, p. ej., sangre o líquido extracelular, p. ej., líquido intersticial. Normalmente, las condiciones fisiológicas incluyen un pH que varía de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 7,8, p. ej., de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,5. Normalmente, un medio fisiológico comprende una sustancia tamponante que ayuda a mantener el pH del medio dentro de un intervalo fisiológico. Normalmente, las condiciones fisiológicas comprenden condiciones tales que una proteína habitual de mamífero, p. ej., una proteína normalmente hallada en un líquido corporal, tal como sangre o líquido extracelular, conserva sustancialmente la estructura secundaria y, si procede, terciaria que dicha proteína tiene en el líquido corporal en el que normalmente se encuentra. Normalmente, los componentes de un medio fisiológico sustancialmente no son tóxicos para las células de mamífero a la concentración a la que están presentes en el medio fisiológico. Se enumeran diversos medios fisiológicos (en ocasiones, denominados "tampones") en diversas referencias convencionales, tales como las citadas anteriormente (p. ej., Sambrook, *et al.*, *Protocols series*). Normalmente, una temperatura fisiológica varía de aproximadamente 25 grados C a aproximadamente 38 grados C, p. ej., de aproximadamente 30 grados C a aproximadamente 37 grados C, p. ej., de 35 grados C a 37 grados C.

55 "Polipéptido", como se usa en el presente documento, se refiere a un polímero de aminoácidos, incluyendo opcionalmente uno o más análogos de aminoácidos. Una proteína es una molécula compuesta por uno o más polipéptidos. Un péptido es un polipéptido relativamente corto, normalmente de entre aproximadamente 2 y 60 aminoácidos de longitud, p. ej., entre 8 y 40 aminoácidos de longitud. Los términos "proteína", "polipéptido" y "péptido" pueden usarse indistintamente. Los polipéptidos usados en el presente documento pueden contener aminoácidos tales como los que se encuentran de manera natural en proteínas, aminoácidos que no se encuentran de manera natural en proteínas y/o análogos de aminoácidos que no son aminoácidos. Como se usa en el presente documento, un "análogo" de un aminoácido puede ser un aminoácido diferente que se asemeja estructuralmente al aminoácido o un compuesto distinto de un aminoácido que se asemeja estructuralmente al aminoácido. Se conoce una gran cantidad de análogos reconocidos en la técnica de los 20 aminoácidos hallados habitualmente en las proteínas (los aminoácidos "convencionales"). Uno o más de los aminoácidos en un polipéptido pueden modificarse, por ejemplo, mediante la adición de una entidad química tal como un grupo hidrato de carbono, un grupo fosfato, un grupo farnesilo, un grupo isofarnesilo, un grupo ácido graso, un conector para conjugación, funcionalización u otra modificación, etc.

Determinados análogos y modificaciones adecuados no limitantes se describen en el documento WO2004026328 y/o a continuación. El polipéptido puede estar acetilado, p. ej., en el extremo N, y/o amidado, p. ej., en el extremo C.

5 La expresión "purificado", como se usa en el presente documento, se refiere a sustancias que se han separado de al menos algunos o la mayoría de los componentes con los que están asociados en la naturaleza o cuando se generaron originalmente o con los que se asociaron antes de la purificación. En general, dicha purificación implica la acción de la mano del hombre. Los agentes purificados pueden ser parcialmente purificados, sustancialmente purificados o puros. Dichos agentes pueden ser, por ejemplo, al menos 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de 99 % puros. Un ácido nucleico, polipéptido o molécula pequeña puede purificarse de 10 manera que constituya al menos 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más, del material total de ácido nucleico, polipéptido o molécula pequeña, respectivamente, presente en una preparación. Una sustancia orgánica, p. ej., un ácido nucleico, polipéptido o molécula pequeña, puede purificarse de manera que constituya al menos 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más, del material orgánico total presente en una 15 preparación. La pureza puede basarse en, p. ej., el peso seco, el tamaño de los picos en un trazado de cromatografía (GC, HPLC, etc.), la abundancia molecular, métodos electroforéticos, la intensidad de las bandas en un gel, los datos espectroscópicos (p. ej., RMN), el análisis elemental, la secuenciación de alto rendimiento, la espectrometría de masas o cualquier método de cuantificación aceptado en la técnica. Pueden estar opcionalmente presentes en una preparación purificada agua, sustancias tamponantes, iones y/o moléculas pequeñas (p. ej., precursores sintéticos tales como nucleótidos o aminoácidos). Se puede preparar un agente purificado separándolo de otras sustancias (p. 20 ej., otros materiales celulares) o produciéndolo de tal manera para lograr el grado deseado de pureza. Normalmente, "parcialmente purificado" con respecto a una molécula producida por una célula significa que una molécula producida por una célula ya no está presente dentro de la célula, p. ej., la célula se ha lisado y, opcionalmente, al menos parte del material celular (p. ej., pared celular, membrana(s) celular(es), orgánulo(s) celular(es)) se ha eliminado y/o la molécula se ha separado o segregado de al menos algunas moléculas del mismo tipo (proteína, ARN, ADN, etc.) que 25 estaban presentes en el lisado.

"Células hospedadoras recombinantes", "células hospedadoras" y otras expresiones similares, denotan células procariotas o eucariotas o líneas celulares que contienen un ácido nucleico exógeno (normalmente ADN) tal como un vector de expresión que comprende un ácido nucleico que codifica un polipéptido de interés. Se entenderá que dichas expresiones incluyen los descendientes de la(s) célula(s) original(es) en la(s) que se ha introducido el vector u otro ácido nucleico. Las células hospedadoras adecuadas incluyen cualquiera de las que se usan habitualmente en la técnica para expresar polinucleótidos (p. ej., con el fin de producir polipéptido(s) codificado(s) por dichos polinucleótidos) incluyendo, por ejemplo, procariotas, tales como *E. coli* u otras bacterias tales como especies de *Escherichia*; *Lactobacillus*, *Bacillus* (p. ej., *B. subtilis*), *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Staphylococcus*, etc.; 30 y eucariotas, incluyendo, por ejemplo, hongos, tales como levadura (p. ej., *Pichia* (p. ej., *Pichia pastoris*), *Kluyveromyces*, tal como *K. lactis*, *Hansenula*, p. ej., *H. polymorpha*). Son ejemplos de otras células fúngicas las células de hongos filamentosos, p. ej., *Aspergillus* spp., *Neurospora* spp., *Fusarium* spp. o *Trichoderma* spp., p. ej., cepas de *A. oryzae*, *A. nidulans* o *A. niger*, células de insecto (p. ej., Sf9), células vegetales y células animales, p. ej., células de mamífero tales como CHO, R1.1, B-W, L-M, células renales de mono verde africano (p. ej., COS-1, COS-40 7, BSC-1, BSC-40 y BMT-10) y células humanas cultivadas. También se incluyen células modificadas genéticamente en plantas o animales modificados genéticamente (p. ej., transgénicos), en donde un polipéptido recombinante es producido por al menos algunas de dichas células. Un polipéptido se puede secretar en la leche, recoger de material vegetal, etc. El ácido nucleico exógeno puede mantenerse de manera estable como un episoma, tal como un plásmido, o puede integrarse al menos en parte en el genoma de la célula hospedadora, opcionalmente después de copiarse o 45 transcribirse de manera inversa. Expresiones tales como "células hospedadoras", etc., también se usan para hacer referencia a células o líneas celulares que pueden usarse como receptores para un ácido nucleico exógeno, antes de la introducción del ácido nucleico. Un "polinucleótido recombinante" en general es un polinucleótido que contiene secuencias de ácido nucleico que no se encuentran unidas directamente entre sí en la naturaleza. Por ejemplo, las secuencias de ácido nucleico pueden aparecer en diferentes genes o diferentes especies o una o más de las 50 secuencias pueden ser una variante de una secuencia de origen natural o pueden ser al menos en parte una secuencia artificial que no es homóloga de una secuencia de origen natural. Un "polipéptido recombinante" es en general un polipéptido que se produce al menos en parte mediante transcripción y traducción de un ácido nucleico exógeno por una célula hospedadora recombinante o por un sistema de expresión *in vitro* sin células y/o que contiene secuencias de aminoácidos que no se encuentran unidas directamente entre sí en la naturaleza. En este último caso, el polipéptido recombinante puede denominarse "polipéptido químérico". Las secuencias de aminoácidos en un polipéptido químérico pueden, por ejemplo, aparecer en diferentes genes o en diferentes especies o una o más de las secuencias pueden ser una variante de una secuencia de origen natural o pueden ser al menos en parte una secuencia artificial que no es idéntica o no es homóloga de una secuencia de origen natural sobre una parte sustancial de la longitud. Se entenderá que un polipéptido químérico puede comprender dos o más polipéptidos. Por ejemplo, el primer y el segundo 55 polipéptidos A y B de un polipéptido químérico pueden estar unidos directamente (A-B o B-A) o pueden estar separados por una tercera parte polipeptídica C (A-C-B o B-C-A). Normalmente, la parte C representa un conector polipeptídico que puede, por ejemplo, comprender múltiples residuos de glicina y/o serina o cualquiera de otros aminoácidos diversos. Normalmente, dos o más polipéptidos pueden estar unidos por un conector o conectores no polipeptídicos. "Recombinante", como se usa en el presente documento, abarca polipéptidos producidos mediante unión (p. ej., 60 conjugación química, conjugación enzimática), de polipéptidos recombinantes más cortos que pueden producirse en células hospedadoras recombinantes. Un polipéptido recombinante puede comprender una secuencia señal que dirige 65

la secreción del polipéptido o una secuencia que dirige el polipéptido expresado a un compartimento u orgánulo específico. Se conocen en la técnica secuencias adecuadas. Pueden seleccionarse secuencias adecuadas para un tipo de célula hospedadora de interés (p. ej., bacteriana, fúngica, de mamífero, vegetal, etc.). Una secuencia señal puede estar ubicada en o cerca (p. ej., a una distancia de hasta 10-50 aminoácidos) del extremo N o el extremo C.

- 5 Normalmente, un polipéptido comprende un marcador. Un marcador puede ser útil para facilitar la detección y/o purificación de una proteína que lo contiene. Los ejemplos de marcadores incluyen marcador de polihistidina (p. ej., marcador de His 6X), glutatión-S-transferasa, proteína de unión a maltosa, marcador de NUS, marcador de SNUT, marcador de estrep, marcadores epítópicos tales como V5, HA, Myc o FLAG. Un sitio de escisión de proteasa puede estar ubicado en la región entre el marcador y el polipéptido, permitiendo que el polipéptido se separe del marcador por exposición a la proteasa. Un polinucleótido que codifica un polipéptido recombinante puede tener codones al menos en parte optimizados para expresión en una célula hospedadora de interés (p. ej., bacteriana, fúngica, de mamífero, vegetal, etc.). Un marcador puede estar ubicado en o cerca (p. ej., a una distancia de hasta 10-50 aminoácidos) del extremo N o C de un polipéptido. Un polipéptido recombinante se puede aislar, purificar, etc., usando cualquiera de diversos métodos. Véase, p. ej., Sambrook, serie *Protocols*, u otras referencias convencionales. Los 10 métodos de uso pueden incluir, p. ej., diáisis (p. ej., usando membranas que tienen un tamaño de poro definido), cromatografía, precipitación, purificación en gel o métodos basados en afinidad que pueden utilizar un marcador o un reactivo de unión específico, tal como un anticuerpo.
- 15

"Grupos funcionales reactivos" como se usa en el presente documento se refiere a grupos que incluyen, pero sin limitación, olefinas, acetilenos, alcoholes, fenoles, éteres, óxidos, haluros, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, amidas, cianatos, isocianatos, tiocianatos, isotiocianatos, aminas, hidracinas, hidrazonas, hidracidas, diazo, diazonio, nitro, nitrilos, mercaptanos, sulfuros, disulfuros, sulfóxidos, sulfonas, ácidos sulfónicos, ácidos sulfénicos, acetales, cetales, anhídridos, sulfatos, isonitrilos de ácidos sulfénicos, amidinas, imidas, imidatos, nitronas, hidroxilaminas, oximas, ácidos hidroxámicos, ácidos tiohidroxámicos, alenos, ortoésteres, sulfitos, enaminas, 20 inaminas, ureas, pseudoureas, semicarbacidas, carbodiimidas, carbamatos, iminas, acidás, compuestos azoicos, compuestos azoxi y compuestos nitrosos, ésteres de N-hidroxisuccinimida, maleimidas, sulfhidrilos y similares. Los 25 métodos para preparar cada uno de estos grupos funcionales son bien conocidos en la técnica y su aplicación o modificación para un fin particular está dentro de la capacidad de un experto en la materia (véase, por ejemplo, Sandler y Karo, eds. *ORGANIC FUNCTIONAL GROUP PREPARATIONS*, Academic Press, San Diego, 1989 y Hermanson, G., *Bioconjugate Techniques*, 2^a ed., Academic Press, San Diego, 2008).

"Unión específica" se refiere en general a una asociación física entre un polipéptido diana (o, de manera más general, una molécula diana) y una molécula de unión tal como un anticuerpo o ligando. La asociación depende normalmente de la presencia de una característica estructural particular de la diana, tal como un determinante antigeníco, epítopo, bolsillo de unión o hendidura, reconocido por la molécula de unión. Por ejemplo, si un anticuerpo es específico para el epítopo A, la presencia de un polipéptido que contiene el epítopo A o la presencia de A libre sin marcar en una reacción que contiene tanto A libre marcado como la molécula de unión que se une con el mismo, reducirá la cantidad de A marcado que se une con la molécula de unión. Debe entenderse que no es necesario que la especificidad sea absoluta, sino que en general se refiere al contexto en el que se produce la unión. Por ejemplo, es bien conocido en la técnica 30 que numerosos anticuerpos reaccionan de forma cruzada con otros epítopos además de los presentes en la molécula diana. Dicha reactividad cruzada puede ser aceptable dependiendo de la aplicación para la que se vaya a usar el anticuerpo. Un experto habitual en la materia podrá seleccionar anticuerpos o ligandos que tengan un grado de especificidad suficiente para funcionar adecuadamente en cualquier aplicación dada (p. ej., para la detección de una molécula diana, para fines terapéuticos, etc.). También debe entenderse que la especificidad puede evaluarse en el 35 contexto de factores adicionales tales como la afinidad de la molécula de unión por la diana frente a la afinidad de la molécula de unión por otras dianas, p. ej., competidores. Si una molécula de unión presenta una alta afinidad por una molécula diana que se desea detectar y baja afinidad por moléculas no diana, el anticuerpo probablemente será un reactivo aceptable. Una vez que se establece la especificidad de una molécula de unión en uno o más contextos, se 40 puede emplear en otros contextos, preferentemente similares, sin reevaluar necesariamente su especificidad. 45 Normalmente, la afinidad (medida por la constante de disociación en equilibrio, Kd) de dos moléculas que presentan unión específica es 10⁻³ M o menos, p. ej., 10⁻⁴ M o menos, p. ej., 10⁻⁵ M o menos, p. ej., 10⁻⁶ M o menos, 10⁻⁷ M o menos, 10⁻⁸ M o menos o 10⁻⁹ M o menos en las condiciones probadas, p. ej., en condiciones fisiológicas.

50 Un "sujeto" tratado según la presente invención es normalmente un ser humano, un primate no humano o un animal inferior (p. ej., un ratón o una rata), que expresa o contiene al menos algún componente del complemento de primates (p. ej., humano) C3 y, opcionalmente, uno o más componentes adicionales del complemento de primates. En algunas realizaciones, el sujeto es masculino. En algunas realizaciones, el sujeto es femenino. En algunas realizaciones, el sujeto es un adulto, p. ej., un ser humano de al menos 18 años de edad, p. ej., entre 18 y 100 años de edad. En algunas realizaciones, un sujeto humano tiene al menos 12 años de edad. En algunas realizaciones, un sujeto es un adulto, p. ej., un ser humano de al menos 18 años de edad, p. ej., entre 18 y 100 años de edad. En algunas realizaciones, un sujeto tiene al menos 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 u 80 años de edad. En algunas realizaciones, el sujeto es un niño, p. ej., un ser humano de entre 0 y 4 años de edad o entre 5 y 11 años de edad.

55 "Tratar", como se usa en el presente documento con respecto al tratamiento de un sujeto, se refiere a proporcionar tratamiento, es decir, proporcionar cualquier tipo de tratamiento médico o quirúrgico de un sujeto. El tratamiento se puede proporcionar para neutralizar, aliviar, inhibir la progresión de, prevenir o reducir la probabilidad de una

enfermedad, o para neutralizar, aliviar, inhibir o prevenir la progresión de, prevenir o reducir la probabilidad de uno o más síntomas o manifestaciones de una enfermedad. "Prevenir" se refiere a provocar que una enfermedad o síntoma o manifestación de una enfermedad no se produzca durante al menos un periodo de tiempo en al menos algunos individuos. El tratamiento puede incluir la administración de un compuesto o una composición al sujeto después del desarrollo de uno o más síntomas o manifestaciones indicativos de una enfermedad, p. ej., para neutralizar, aliviar, reducir la gravedad de y/o inhibir o prevenir la progresión de la enfermedad y/o neutralizar, aliviar, reducir la gravedad y/o inhibir uno o más síntomas o manifestaciones de la enfermedad. Un compuesto o composición se puede administrar a un sujeto que ha desarrollado una enfermedad, o tiene un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad en relación con un miembro de la población general. Se puede administrar un compuesto o una composición a un sujeto que ha desarrollado una enfermedad y tiene mayor riesgo de desarrollar uno o más síntomas o manifestaciones particulares de la enfermedad o un agravamiento de la enfermedad en relación con otros individuos a los que se ha diagnosticado la enfermedad o en relación con el riesgo habitual o promedio del sujeto para dicho síntoma o manifestación o agravamiento. Por ejemplo, el sujeto puede haber estado expuesto a un "desencadenante" que lo ponga en mayor riesgo (p. ej., riesgo temporalmente mayor) de experimentar un agravamiento. Un compuesto o una composición se puede administrar de manera profiláctica, es decir, antes del desarrollo de cualquier síntoma o manifestación de la enfermedad. Normalmente, en este caso, el sujeto estará en riesgo de desarrollar la enfermedad, p. ej., en relación con un miembro de la población general, opcionalmente coincidente con respecto a edad, sexo y/u otras variables demográficas.

Un "vector" puede ser cualquiera de diversas moléculas de ácido nucleico, virus o partes de los mismos que son capaces de mediar en la entrada, p. ej., transferencia, transporte, etc., de un ácido nucleico de interés entre diferentes ambientes genéticos o en una célula. El ácido nucleico de interés puede unirse con, p. ej., insertarse en, el vector usando, p. ej., restricción y ligamiento. Los vectores incluyen, por ejemplo, plásmidos de ADN o ARN, cósidos, genomas víricos de origen natural o modificados o partes de los mismos, ácidos nucleicos que se pueden empaquetar en cápsides víricas, mini-cromosomas, cromosomas artificiales, etc. Los vectores plasmídicos normalmente incluyen un origen de replicación (p. ej., para replicación en células procariotas). Un plásmido puede incluir parte o la totalidad de un genoma vírico (p. ej., un promotor vírico, potenciador, señales de procesamiento o empaquetamiento y/o secuencias suficientes para dar lugar a un ácido nucleico que puede integrarse en el genoma de la célula hospedadora y/o dar lugar a virus infecciosos). Los virus o partes de los mismos que pueden usarse para introducir ácidos nucleicos en las células pueden denominarse vectores víricos. Los vectores víricos incluyen, p. ej., adenovirus, virus adenoasociados, retrovirus (p. ej., lentivirus, virus vaccinia y otros poxvirus, virus del herpes (p. ej., virus del herpes simple) y otros. Los baculovirus se pueden usar, p. ej., en células de insectos. Se conoce una amplia gama de vectores víricos de plantas e incluyen, p. ej., los basados en o que comprenden el virus del mosaico de la coliflor, virus del mosaico del tabaco o uno o más elementos genéticos de los mismos (p. ej., promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor). Los vectores víricos pueden contener o no suficiente información genética vírica para la producción de virus infecciosos cuando se introducen en células hospedadoras, es decir, los vectores víricos pueden ser competentes en replicación o defectuosos en replicación. Por ejemplo, cuando falta información suficiente para la producción de virus infeccioso, esta puede ser suministrada por una célula hospedadora o por otro vector introducido en la célula, p. ej., si se desea la producción de virus. Como alternativa, dicha información puede no ser suministrada, p. ej., si no se desea la producción de virus. Un ácido nucleico para transferir puede incorporarse a un genoma vírico de origen natural o modificado o una parte del mismo o puede estar presente dentro de una cápside vírica como una molécula de ácido nucleico separada. Un vector puede contener uno o más ácidos nucleicos que codifican un marcador adecuado para identificar y/o seleccionar células que han captado el vector. Los marcadores incluyen, por ejemplo, diversas proteínas que aumentan o disminuyen la resistencia o la sensibilidad a antibióticos u otros agentes (p. ej., una proteína que confiere resistencia a un antibiótico tal como puromicina, higromicina o blasticidina), enzimas cuyas actividades son detectables mediante ensayos conocidos en la técnica (p. ej., β-galactosidasa o fosfatasa alcalina) y proteínas o ARN que afectan de manera detectable al fenotipo de las células que las expresan (p. ej., proteínas fluorescentes). Los vectores incluyen con frecuencia uno o más sitios colocados de manera adecuada para enzimas de restricción, que pueden usarse para facilitar la inserción en el vector de un ácido nucleico, p. ej., un ácido nucleico para expresar. Un vector de expresión es un vector en el que se ha insertado o puede insertarse un ácido nucleico deseado de modo que esté unido operativamente a elementos reguladores (también denominados "secuencias reguladoras", "elementos de control de la expresión" o "secuencias de control de la expresión") y puede expresarse como un transcripto de ARN (p. ej., un ARNm que puede traducirse en proteína o un ARN no codificante). Los vectores de expresión incluyen secuencia(s) reguladora(s), p. ej., secuencias de control de la expresión, suficientes para dirigir la transcripción de un ácido nucleico unido operativamente en al menos algunas condiciones; otros elementos necesarios o útiles para la expresión pueden ser suministrados por, p. ej., la célula hospedadora o por un sistema de expresión *in vitro*. Dichas secuencias reguladoras normalmente incluyen un promotor y pueden incluir secuencias potenciadoras o secuencias activadoras cadena arriba. Un vector puede incluir secuencias que codifican una región no traducida 5' y/o una región no traducida 3', que puede comprender una señal de escisión y/o poliadenilación. En general, los elementos reguladores pueden estar contenidos en un vector antes de la inserción de un ácido nucleico cuya expresión se desea o pueden estar contenidos en un ácido nucleico insertado o pueden insertarse en un vector después de la inserción de un ácido nucleico cuya expresión se desea. Como se usa en el presente documento, se dice que un ácido nucleico y elemento(s) regulador(es) están "unidos operativamente" cuando están unidos covalentemente para colocar la expresión o transcripción del ácido nucleico bajo la influencia o el control del (de los) elemento(s) regulador(es). Por ejemplo, una región promotora estaría unida operativamente con un ácido nucleico si la región promotora fuera capaz de efectuar la transcripción de ese ácido nucleico. Un experto habitual en la materia será consciente de que la

- naturaleza precisa de las secuencias reguladoras útiles para la expresión génica puede variar entre especies o tipos celulares, pero puede incluir, en general, según sea adecuado, secuencias implicadas en el inicio de la transcripción, el procesamiento de ARN o el inicio de la traducción. La elección y el diseño de un vector adecuado y elemento(s) regulador(es) están dentro la capacidad y el criterio de un experto habitual en la materia. Por ejemplo, un experto en la materia seleccionará un promotor adecuado (u otras secuencias de control de la expresión) para la expresión en una especie (p. ej., una especie procariota (bacteriana) o eucariota (p. ej., fúngica, vegetal, de mamífero) o tipo celular deseado. Un vector puede contener un promotor capaz de dirigir la expresión en células de mamífero, tal como un promotor vírico adecuado, p. ej., de un citomegalovirus (CMV), retrovirus, virus de simio (p. ej., SV40), virus del papiloma, virus del herpes u otro virus que infecte a células de mamíferos, o un promotor de mamíferos de, p. ej., un gen tal como EF1alfa, ubiquitina (p. ej., ubiquitina B o C), globina, actina, fosfoglicerato cinasa (PGK), etc., o un promotor compuesto tal como un promotor CAG (combinación del elemento potenciador temprano de CMV y el promotor beta-actina de pollo). Se puede usar un promotor humano. Se puede usar un promotor que generalmente dirige la transcripción por una ARN polimerasa eucariota I (un "promotor pol I"), p. ej., (un promotor U6, H1, 7SK o ARNt o una variante funcional del mismo). Se puede usar un promotor que generalmente dirige la transcripción por una ARN polimerasa II eucariota (un "promotor pol II") o una variante funcional de la misma. Un promotor que normalmente dirige la transcripción por una ARN polimerasa III eucariota (un "promotor pol III"), p. ej., se puede usar un promotor para la transcripción de ARN ribosómico (distinto de ARNr 5S) o una variante funcional del mismo. Un experto habitual en la materia seleccionará un promotor adecuado para dirigir la transcripción de una secuencia de interés. Los ejemplos de vectores de expresión que pueden usarse en células de mamífero incluyen, p. ej., la serie de vectores pcDNA, serie de vectores pSV2, serie de vectores pCMV, serie de vectores pRSV, serie de vectores pEF1, vectores Gateway®, etc. Normalmente, se usa(n) elemento(s) de control de la expresión regulable(s) (p. ej., inducibles o reprimibles), p. ej. un promotor regulable, de modo que la expresión pueda regularse, p. ej., activarse o aumentarse o inactivarse o disminuirse. Un vector puede comprender una secuencia polinucleotídica que codifica un polipéptido, en donde la secuencia polinucleotídica se coloca en fase con un ácido nucleico insertado en el vector de modo que se cree una fusión N o C-terminal. Un polipéptido codificado por la secuencia polinucleotídica puede comprender una secuencia señal (que dirige la secreción de una proteína) o una secuencia que dirige la proteína expresada a un orgánulo o ubicación específico en la célula, tal como el núcleo o las mitocondrias. Un polipéptido puede comprender un marcador. Un marcador puede ser útil para facilitar la detección y/o purificación de una proteína que lo contiene. Los ejemplos de marcadores incluyen marcador de polihistidina (p. ej., marcador de His 6X), glutatión-S-transferasa, proteína de unión a maltosa, marcador de NUS, marcador de SNUT, marcador de estrep, marcadores epítópicos tales como V5, HA, Myc o FLAG. Un sitio de escisión de proteasa puede estar ubicado en la región entre la proteína codificada por el ácido nucleico insertado y el polipéptido, lo que permite que el polipéptido se elimine por exposición a la proteasa. Pueden introducirse vectores en células hospedadoras usando métodos conocidos en la técnica. Un experto habitual en la materia seleccionará un método adecuado, p. ej., en función del vector, tipo celular, etc. Los ejemplos de métodos adecuados incluyen, p. ej., transfección mediada por fosfato de calcio, transfección con cualquiera de diversos reactivos disponibles en el mercado, p. ej., a base de lípidos o a base de sustancias no lipídicas, tales como FuGENE, Lipofectamine, TurboFect; electroporación; bombardeo con micropartículas, etc. Dichos métodos se explican en detalle en referencias convencionales tales como Sambrook, serie Protocols, y otras.
- Como se usa en el presente documento, el término "alifático" indica un resto de hidrocarburo que puede ser de cadena lineal (es decir, no ramificada), ramificado o cíclico (incluyendo policíclico fusionado, de enlace y espiro-fusionado) y puede estar completamente saturado o puede contener una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático. Salvo que se especifique otra cosa, los grupos alifáticos contienen 1-30 átomos de carbono. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-10 átomos de carbono. En otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-8 átomos de carbono. En otras realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono y en otras realizaciones más los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos de carbono. Los grupos alifáticos adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos alquilo, alquenilo y alquenilo lineales o ramificados, e híbridos de los mismos tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalquenil)alquilo o (cicloalquil)alquenilo.
- Como se usa en el presente documento, "halo" se refiere a un hidrocarburo saturado lineal, ramificado o cíclico que tiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 22 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo), prefiriéndose de aproximadamente 1 a aproximadamente 12 o de aproximadamente 1 a aproximadamente 7 átomos de carbono en determinadas realizaciones de la invención. Los grupos halo incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *t*-butilo, *n*-pentilo, ciclopentilo, isopentilo, neopentilo, *n*-hexilo, isohexilo, ciclohexilo, ciclooctilo, adamantilo, 3-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo y 2,3-dimetilbutilo.
- Como se usa en el presente documento, "halo" se refiere a F, Cl, Br o I.
- Como se usa en el presente documento, "alcanoílo" se refiere a un residuo acíclico alifático lineal o ramificado opcionalmente sustituido que tiene aproximadamente de 1 a 10 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y número específico de átomos de carbono) en el mismo, p. ej., de aproximadamente 1 a 7 átomos de carbono que, como se apreciará, está unido a un grupo C=O terminal con un enlace sencillo (y también puede denominarse "grupo acilo"). Los grupos alcanoílo incluyen, pero sin limitación, formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, pentanoílo, isopentanoílo, 2-metil-butirilo, 2,2-dimetoxipropionilo, hexanoílo, heptanoílo, octanoílo y similares y, para fines de la presente invención, un grupo formilo se considera un grupo alcanoílo. "Alcanoílo inferior"

se refiere a un residuo acíclico alifático lineal o ramificado opcionalmente sustituido que tiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y número específico de átomos de carbono). Dichos grupos incluyen, pero sin limitación, formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, pentanoilo, isopentanoilo, etc.

5 Como se usa en el presente documento, "arilo" se refiere a un sistema de anillo aromático mono o bicíclico, opcionalmente sustituido, que tiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 14 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo), prefiriéndose de aproximadamente 6 a aproximadamente 10 carbonos. Los ejemplos no limitantes incluyen, por ejemplo, fenilo y naftilo.

10 Como se usa en el presente documento, "aralquilo" se refiere a radicales alquilo que portan un sustituyente arilo y que tienen de aproximadamente 6 a aproximadamente 22 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo), prefiriéndose de aproximadamente 6 a aproximadamente 12 átomos de carbono en determinadas realizaciones. Los grupos aralquilo pueden estar opcionalmente sustituidos. Los ejemplos no limitantes incluyen, por ejemplo, bencilo, naftilmetilo, difenilmelilo, trifenilmelilo, feniletilo y difeniletilo.

15 Como se usa en el presente documento, los términos "alcoxi" y "alcoxilo" se refieren a un grupo alquil-O opcionalmente sustituido en donde el alquilo es como se ha definido anteriormente. Los grupos alcoxi y alcoxilo ilustrativos incluyen metoxi, etoxi, *n*-propoxi, *i*-propoxi, *n*-butoxi y heptoxi.

20 Como se usa en el presente documento, "carboxilo" se refiere a un grupo -C(=O)OH.

25 Como se usa en el presente documento, "alcoxicarbonilo" se refiere a un grupo -C(=O)O-alquilo, donde el alquilo es como se ha definido anteriormente.

30 Como se usa en el presente documento, "aroilo" se refiere a un grupo -C(=O)-arilo, en donde el arilo es como se ha definido anteriormente. Los grupos aroilo ilustrativos incluyen benzoilo y naftoilo.

35 La expresión "sistema de anillo cíclico" se refiere a un sistema de anillo de 3 a 10 miembros aromático o no aromático, parcialmente insaturado o completamente saturado, que incluye anillos individuales de 3 a 8 átomos de tamaño y sistemas de anillos bicíclicos y tricíclicos que pueden incluir grupos heterocíclicos aromáticos o arilo de 5 o 6 miembros aromáticos fusionados con un anillo no aromático. Estos anillos heterocíclicos incluyen los que tienen de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de manera independiente del grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno. En determinadas realizaciones, el término heterocíclico se refiere a un anillo no aromático de 5, 6 o 7 miembros o un grupo policíclico en donde al menos un átomo de anillo es un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en O, S y N, incluyendo, pero sin limitación, un grupo bi o tricíclico, que comprende anillos fusionados de seis miembros que tienen entre uno y tres heteroátomos seleccionados de manera independiente del grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno. En algunas realizaciones, "sistema de anillo cíclico" se refiere a un grupo cicloalquilo que, como se usa en el presente documento, se refiere a grupos que tienen de 3 a 10, p. ej., de 4 a 7 átomos de carbono. Los cicloalquilos incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares, que están opcionalmente sustituidos. En algunas realizaciones, "sistema de anillo cíclico" se refiere a un resto cicloalquenilo o cicloalquinilo, que está opcionalmente sustituido.

45 Normalmente, los restos químicos sustituidos incluyen uno o más sustituyentes que reemplazan hidrógeno. Los sustituyentes ilustrativos incluyen, por ejemplo, halo, alquilo, cicloalquilo, aralquilo, arilo, sulfhidrilo, hidroxilo (-OH), alcoxilo, ciano (-CN), carboxilo (-COOH), -C(=O)O-alquilo, aminocarbonilo (-C(=O)NH₂), aminocarbonilo -N-sustituido (-C(=O)NHR"), CF₃, CF₂CF₃ y similares. En relación con los sustituyentes mencionados anteriormente, cada resto R" puede ser, de manera independiente, cualquiera de H, alquilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo, por ejemplo.

50 Como se usa en el presente documento, "L-aminoácido" se refiere a cualquiera de los alfa-aminoácidos levógiros de origen natural en proteínas o los ésteres de alquilo de los alfa-aminoácidos. La expresión "D-aminoácido" se refiere a alfa-aminoácidos dextrógiros. Salvo que se especifique otra cosa, todos los aminoácidos a los que se hace referencia en el presente documento son L-aminoácidos.

55 Como se usa en el presente documento, un "aminoácido aromático" es un aminoácido que comprende al menos un anillo aromático, p. ej., comprende un grupo arilo.

60 Como se usa en el presente documento, un "análogo de aminoácido aromático" es un análogo de aminoácido que comprende al menos un anillo aromático, p. ej., comprende un grupo arilo.

II. Sistema del complemento

65 Para facilitar la comprensión de la invención, y sin pretender limitar la invención de ninguna manera, esta sección proporciona una visión de conjunto del complemento y sus rutas de activación. Se encuentran detalles adicionales, p.

ej., en Kuby Immunology, 6^a ed., 2006; Paul, W.E., Fundamental Immunology, Lippincott Williams & Wilkins; 6^a ed., 2008; y Walport MJ., Complement. First of two parts. *N Engl J Med.*, 344 (14): 1058-66, 2001.

- 5 El complemento es una rama del sistema inmunitario innato que desempeña un papel importante en la defensa del cuerpo contra agentes infecciosos. El sistema del complemento comprende más de 30 proteínas séricas y celulares que están implicadas en tres rutas principales, conocidas como las rutas clásica, alternativa y de lectina. La ruta clásica se desencadena habitualmente mediante la unión de un complejo de antígeno y anticuerpo IgM o IgG con C1 (aunque otros activadores determinados también pueden iniciar la ruta). C1 activado escinde C4 y C2 para producir C4a y C4b, además de C2a y C2b. C4b y C2a se combinan para formar C3 convertasa, que escinde C3 para formar C3a y C3b.

10 La unión de C3b con C3 convertasa produce C5 convertasa, que escinde C5 en C5a y C5b. C3a, C4a y C5a son anafilatoxinas y median en múltiples reacciones en la respuesta inflamatoria aguda. C3a y C5a también son factores quimiotácticos que atraen células del sistema inmunitario, tales como neutrófilos.

15 La ruta alternativa se inicia mediante y se amplifica en, p. ej., superficies microbianas y diversos polisacáridos complejos. En esta ruta, la hidrólisis de C3 a C3(H2O), que se produce espontáneamente a un nivel bajo, conduce a la unión del factor B, que se escinde mediante el factor D, generando una C3 convertasa en fase fluida que activa el complemento escindiendo C3 en C3a y C3b. C3b se une con dianas tales como superficies celulares y forma un complejo con el factor B, que posteriormente se escinde mediante el factor D, dando como resultado una C3 convertasa. Las C3 convertasas unidas a la superficie escinden y activan moléculas C3 adicionales, dando como resultado deposición rápida de C3b muy cerca del sitio de activación y conduciendo a la formación de C3 convertasa adicional, que a su vez genera C3b adicional. Este proceso da como resultado un ciclo de escisión de C3 y formación de C3 convertasa que amplifica significativamente la respuesta. La escisión de C3 y la unión de otra molécula de C3b con la C3 convertasa da lugar a una C5 convertasa. Las C3 y C5 convertasas de esta ruta están reguladas por las moléculas de la célula hospedadora CR1, DAF, MCP, CD59 y fH. El modo de acción de estas proteínas implica la actividad aceleradora de la descomposición (es decir, la capacidad de disociar convertasas), la capacidad para actuar como cofactores en la degradación de C3b o C4b por el factor I, o ambos. Normalmente, la presencia de proteínas reguladoras del complemento en las superficies de células hospedadoras evita que se produzca activación significativa del complemento en las mismas.

20

25

30 Las C5 convertasas producidas en ambas rutas escinden C5 para producir C5a y C5b. C5b se une después con C6, C7 y C8 para formar C5b-9, que cataliza la polimerización de C9 para formar el complejo de ataque a la membrana (MAC) C5b-9. El MAC se inserta en membranas celulares diana y provoca lisis celular. Pequeñas cantidades de MAC en la membrana de las células pueden tener diversas consecuencias además de la muerte celular.

35 La ruta del complemento de lectina se inicia mediante la unión de lectina de unión a manosa (MBL) y serina proteasa asociada a MBL (MASP) con carbohidratos. El gen de MB1-1 (conocido como LMAN-1 en seres humanos) codifica una proteína de membrana integral de tipo I localizada en la región intermedia entre el retículo endoplásmico y el Golgi. El gen de MBL-2 codifica la proteína de unión a manosa soluble hallada en el suero. En la ruta de lectina humana, MASP-1 y MASP-2 están implicadas en la proteólisis de C4 y C2, lo que conduce a una C3 convertasa descrita anteriormente.

40

45 La actividad del complemento está regulada por diversas proteínas de mamíferos denominadas proteínas de control del complemento (PCC) o proteínas reguladoras de activación del complemento (RAC) (patente de los Estados Unidos n.º 6.897.290). Estas proteínas difieren con respecto a la especificidad del ligando y el (los) mecanismo(s) de inhibición del complemento. Pueden acelerar la descomposición normal de las convertasas y/o actuar como cofactores para el factor I, para escindir enzimáticamente C3b y/o C4b en fragmentos más pequeños. Las PCC se caracterizan por la presencia de múltiples (normalmente 4-56) motivos homólogos conocidos como repeticiones de consenso cortas (RCC), módulos de proteínas de control del complemento (PCC) o dominios SUSHI, de aproximadamente 50-70 aminoácidos de longitud que contienen un motivo conservado que incluye cuatro cisteínas unidas por enlaces disulfuro (dos enlaces disulfuro), prolina, triptófano y muchos residuos hidrófobos. La familia PCC incluye el receptor del complemento de tipo 1 (CR1; receptor de C3b:C4b), receptor del complemento de tipo 2 (CR2), proteína cofactor de membrana (MCP; CD46), factor acelerador de la descomposición (DAF), factor del complemento H (fH) y proteína de unión a C4b (C4bp). CD59 es una proteína reguladora del complemento unida a membrana que no está relacionada estructuralmente con las PCC. Las proteínas reguladoras del complemento normalmente sirven para limitar la activación del complemento que podría producirse de otro modo en las células y tejidos del mamífero, p. ej., hospedador humano. Por tanto, las células "propias" normalmente están protegidas de los efectos nocivos que se producirían de otro modo si se procediera a la activación del complemento en estas células. Las deficiencias o defectos en proteína(s) reguladora(s) del complemento están implicadas en la patogenia de diversos trastornos mediados por el complemento, p. ej., como se analiza en el presente documento.

50

55

III. Análogos de compstatina

65 La compstatina es un péptido cíclico que se une con C3 e inhibe la activación del complemento. La patente de los Estados Unidos N.º 6.319.897 describe un péptido que tiene la secuencia Ile- [Cys-Val-Val-Gln-Asp-Trp-Gly-His-His-Arg-Cys]-Thr (SEQ ID NO: 1), con el enlace disulfuro entre las dos cisteínas indicado entre paréntesis. Se entenderá que el nombre "compstatina" no se usó en la patente de los Estados Unidos n.º 6.319.897, pero fue adoptado

posteriormente en la bibliografía científica y de patentes (véase, p. ej., Morikis, *et al.*, *Protein Sci.*, 7 (3): 619-27, 1998) para hacer referencia a un péptido que tiene la misma secuencia que la SEQ ID NO: 2 desvelada en la patente de los Estados Unidos N.º 6.319.897, pero amidado en el extremo C como se muestra en la tabla 1 (SEQ ID NO: 8). El término "amidación" se refiere a la adición de un grupo amídico (CONH_2) al final de la secuencia de aminoácidos.

5 término compstatina se usa en el presente documento de manera coherente con dicho uso (es decir, para hacer referencia a la SEQ ID NO: 8). Se han desarrollado análogos de compstatina que tienen mayor actividad inhibidora del complemento que la compstatina. Véase, p. ej., documento WO2004/026328 (PCT/US2003/029653), Morikis, D., et al., Biochem Soc Trans. 32 (parte 1): 28-32, 2004, Mallik, B., et al., J. Med. Chem., 274-286, 2005; Katragadla, M., et al. J. Med. Chem., 49: 4616-4622, 2006; documento WO2007062249 (PCT/US2006/045539); documento WO2007044668 (PCT/US2006/039397), documento WO/2009/046198 (PCT/US2008/078593); documento 10 WO/2010/127336 (PCT/US2010/033345) y análisis a continuación.

15 Los análogos de compstatina pueden estar acetilados o amidados, p. ej., en el extremo N y/o extremo C. Por ejemplo, los análogos de compstatina pueden acetilarse en el extremo N y amidarse en el extremo C. De manera coherente con el uso en la técnica, "compstatina", como se usa en el presente documento, y las actividades de análogos de compstatina descritos en el presente documento en relación con la de compstatina, se refieren a compstatina amidada en el extremo C (Mallik, 2005, mencionado anteriormente).

Los concatámeros o multímeros de compstatina o un análogo inhibidor del complemento de los mismos también se desvelan en la presente invención.

20 La invención proporciona análogos de compstatina que comprenden restos específicos de análogos de compstatina como se define en las reivindicaciones para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento como se define en las reivindicaciones. La expresión "análogo de compstatina" generalmente incluye compstatina y cualquier análogo inhibidor del complemento de la misma. La expresión "análogo de compstatina" normalmente abarca la compstatina y otros compuestos diseñados o identificados en función de la compstatina y cuya actividad inhibidora del complemento es al menos 50 % de la de la compstatina según lo medido, p. ej., usando cualquier ensayo de activación del complemento aceptado en la técnica o ensayos sustancialmente similares o equivalentes. Determinados ensayos adecuados se describen en la patente de los Estados Unidos n.º 6.319.897, documento WO2004/026328, Morikis, mencionado anteriormente, Mallik, mencionado anteriormente, Katragadda 30 2006, mencionado anteriormente, documento WO2007062249 (PCT/US2006/045539); documento WO2007044668 (PCT/US2006/039397), documento WO/2009/046198 (PCT/US2008/078593); y/o documento WO/2010/127336 (PCT/US2010/033345). El ensayo puede, por ejemplo, medir la lisis de eritrocitos mediada por la ruta alternativa o clásica o ser un ensayo ELISA. Puede utilizarse un ensayo descrito en el documento WO/2010/135717 (PCT/US2010/035871).

35 La actividad de un análogo de compstatina puede expresarse con respecto a su Cl_{50} (la concentración del compuesto que inhibe la activación del complemento en 50 %), indicando una Cl_{50} menor una actividad mayor como se reconoce en la técnica. Se observa que se sabe que determinadas modificaciones reducen o eliminan la actividad inhibidora del complemento. La Cl_{50} de compstatina se ha medido como 12 μM usando un ensayo de lisis de eritrocitos mediada por la ruta alternativa (documento WO2004/026328). Se apreciará que el valor de Cl_{50} preciso medido para un análogo de compstatina dado variará con las condiciones experimentales (p. ej., la concentración en suero usada en el ensayo). Los valores comparativos, p. ej., obtenidos de experimentos en los que la Cl_{50} se determina para múltiples compuestos diferentes en condiciones sustancialmente idénticas, son útiles. La Cl_{50} del análogo de compstatina puede no ser mayor que la Cl_{50} de compstatina. La actividad de un análogo de compstatina puede ser entre 2 y 99 veces mayor que la de compstatina (es decir, el análogo puede tener una Cl_{50} que es menor que la Cl_{50} de compstatina en un factor de entre 2 y 99). Por ejemplo, la actividad puede ser entre 10 y 50 veces mayor que la de compstatina o entre 50 y 99 veces mayor que la de compstatina. La actividad de un análogo de compstatina puede ser entre 99 y 264 veces mayor que la de compstatina. Por ejemplo, la actividad puede ser 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260 o 264 veces mayor que la de compstatina. La actividad puede ser entre 250 y 300, 300 y 350, 350 y 400 o 400 y 500 veces mayor que la de compstatina. Los análogos de compstatina pueden tener actividades entre 500 y 1000 veces mayores que la de compstatina, o más. La Cl_{50} de un análogo de compstatina puede ser de entre aproximadamente 0,2 μM y aproximadamente 0,5 μM . En determinadas realizaciones, la Cl_{50} del análogo de compstatina está entre aproximadamente 0,1 μM y aproximadamente 0,2 μM . La Cl_{50} de un análogo de compstatina puede ser de entre aproximadamente 0,05 μM y aproximadamente 0,1 μM . La Cl_{50} de un análogo de compstatina puede ser de entre aproximadamente 0,001 μM y aproximadamente 0,05 μM .

60 La K_d de compstatina que se une con C3 puede medirse usando calorimetría de valoración isotérmica (Ktragadda, *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 279 (53), 54987-54995, 2004). La afinidad de unión de diversos análogos de compstatina por C3 se ha correlacionado con su actividad, indicando una K_d menor una mayor afinidad de unión, como se reconoce en la técnica. Se mostró una correlación lineal entre la afinidad de unión y la actividad para determinados análogos probados (Ktragadda, 2004, mencionado anteriormente; Ktragadda 2006, mencionado anteriormente). Un análogo de compstatina puede unirse con C3 con una K_d de entre 0,1 μM y 1,0 μM , entre 0,05 μM y 0,1 μM , entre 0,025 μM y 0,05 μM , entre 0,015 μM y 0,025 μM , entre 0,01 μM y 0,015 μM o entre 0,001 μM y 0,01 μM .

65 Los compuestos "diseñados o identificados en función de compstatina" pueden incluir compuestos que comprenden una cadena de aminoácidos cuya secuencia se obtiene mediante (i) modificación de la secuencia de compstatina (p.

- ej., reemplazando uno o más aminoácidos de la secuencia de compstatina con un aminoácido o análogo de aminoácido diferente, insertando uno o más aminoácidos o análogos de aminoácidos en la secuencia de compstatina o suprimiendo uno o más aminoácidos de la secuencia de compstatina); (ii) selección de una biblioteca de péptidos de presentación en fagos en la que uno o más aminoácidos de compstatina se seleccionan aleatoriamente y opcionalmente se modifican adicionalmente según el método (i); o (iii) identificado mediante exploración de compuestos que compiten con compstatina o cualquier análogo de la misma obtenido por los métodos (i) o (ii) para la unión con C3 o un fragmento del mismo. Muchos análogos de compstatina útiles comprenden un agrupamiento hidrófobo, una vuelta β y un enlace disulfuro.
- 10 Los análogos de compstatina pueden comprender o consistir esencialmente en una secuencia que se obtiene realizando 1, 2, 3 o 4 sustituciones en la secuencia de compstatina, es decir, 1, 2, 3 o 4 aminoácidos en la secuencia de compstatina se reemplazan por un aminoácido convencional diferente o por un aminoácido no convencional. Puede alterarse el aminoácido en la posición 4. Puede alterarse el aminoácido en la posición 9. Pueden alterarse los aminoácidos en las posiciones 4 y 9. Solo pueden alterarse los aminoácidos en las posiciones 4 y 9. Puede alterarse el aminoácido en la posición 4 o 9 o pueden alterarse ambos aminoácidos 4 y 9, y además pueden alterarse hasta 2 aminoácidos ubicados en las posiciones seleccionadas de 1, 7, 10, 11 y 13. Pueden alterarse los aminoácidos en las posiciones 4, 7 y 9. Pueden alterarse los aminoácidos en la posición 2, 12 o ambos, siempre que la alteración conserve la capacidad del compuesto para ciclar. Dicha(s) alteración(es) en las posiciones 2 y/o 12 pueden ser adicionales a la(s) modificación(es) en las posiciones 1, 4, 7, 9, 10, 11 y/o 13. Opcionalmente, la secuencia de cualquier análogo de compstatina cuya secuencia se obtiene reemplazando uno o más aminoácidos de la secuencia de compstatina puede incluir además hasta 1, 2 o 3 aminoácidos adicionales en el extremo C. El aminoácido adicional puede ser Gly. Opcionalmente, la secuencia de cualquier análogo de compstatina cuya secuencia se obtiene reemplazando uno o más aminoácidos de la secuencia de compstatina puede incluir además hasta 5 o hasta 10 aminoácidos adicionales en el extremo C. Un análogo de compstatina desvelado puede comprender o consistir esencialmente en una secuencia idéntica a la de compstatina, excepto en las posiciones correspondientes a las posiciones 4 y 9 en la secuencia de compstatina.
- 30 La compstatina y determinados análogos de compstatina que tienen actividad algo mayor que la compstatina normalmente contienen solo aminoácidos convencionales (los "aminoácidos convencionales" son glicina, leucina, isoleucina, valina, alanina, fenilalanina, tirosina, triptófano, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, cisteína, metionina, arginina, lisina, prolina, serina, treonina e histidina). Determinados análogos de compstatina que tienen actividad mejorada incorporan uno o más aminoácidos no convencionales. Los aminoácidos no convencionales incluyen aminoácidos halogenados individualmente y de manera múltiple (p. ej., fluorados), D-aminoácidos, homo-aminoácidos, N-alquil aminoácidos, deshidroaminoácidos, aminoácidos aromáticos (distintos de fenilalanina, tirosina y triptófano), ácido orto, meta o paraaminobenzoico, fosfoaminoácidos, aminoácidos metoxilados y aminoácidos α,α -disustituidos. Un análogo de compstatina puede diseñarse reemplazando uno o más L-aminoácidos en un análogo de compstatina descrito en otra parte del presente documento con el D-aminoácido correspondiente. Los aminoácidos no convencionales ilustrativos incluyen 2-naftilanina (2-Nal), 1-naftilanina (1-Nal), ácido 2-indanilglicina carboxílico (2Ig1), dihidrotriptófano (Dht), 4-benzoil-L-fenilalanina (Bpa), ácido 2- α -aminobutírico (2-Abu), ácido 3- α -aminobutírico (3-Abu), ácido 4- α -aminobutírico (4-Abu), ciclohexilalanina (Cha), homociclohexilalanina (hCha), 4-fluoro-L-triptófano (4fW), 5-fluoro-L-triptófano (5fW), 6-fluoro-L-triptófano (6fW), 4-hidroxi-L-triptófano (4OH-W), 5-hidroxi-L-triptófano (5OH-W), 6-hidroxi-L-triptófano (6OH-W), 1-metil-L-triptófano (1MeW), 4-metil-L-triptófano (4MeW), 5-metil-L-triptófano (5MeW), 7-aza-L-triptófano (7aW), α -metil-L-triptófano (α MeW), β -metil-L-triptófano (β MeW), N-metil-L-triptófano (NMeW), ornitina (orn), citrulina, norleucina, ácido γ -glutámico, etc.
- 45 En la invención, el análogo de compstatina comprende un análogo de Trp en la posición 4 en relación con la secuencia de compstatina. Se han mencionado anteriormente análogos de Trp ilustrativos. Véase también Beene, *et al.* Biochemistry 41: 10262-10269, 2002 (que describe, entre otros, análogos de Trp halogenados individualmente y de manera múltiple); Babitzke y Yanofsky, J. Biol. Chem. 270: 12452-12456, 1995 (que describe, entre otros, Trp metilado y halogenado y otros análogos de Trp e indol); y las patentes de los Estados Unidos 6.214.790, 6.169.057, 5.776.970, 4.870.097, 4.576.750 y 4.299.838. Otros análogos de Trp incluyen variantes que están sustituidas (p. ej., por un grupo metilo) en el carbono α o β y, opcionalmente, también en una o más posiciones del anillo de indol. Los aminoácidos que comprenden dos o más anillos aromáticos, incluyendo variantes sustituidas, no sustituidas o sustituidas de manera alternativa de los mismos, son de interés como análogos de Trp. En la invención, el análogo de Trp en la posición 4 es 1-metil-triptófano. Otros análogos de Trp desvelados incluyen los que comprenden un sustituyente 1-alquilo, por ejemplo, un sustituyente alquilo inferior (por ejemplo, C1-C5), N(α) metil triptófano; 5-metiltriptófano y análogos que comprenden un sustituyente 1-alcanoil, por ejemplo, un alcanoílo inferior (por ejemplo, C1-C5), tal como 1-acetil-L-triptófano y L- β -triptófano.
- 60 En la invención, el análogo de Trp tiene un carácter hidrófobo aumentado con respecto a Trp ya que el anillo de indol está sustituido por metilo. El análogo de Trp puede participar en una interacción hidrófoba con C3.
- 65 Otros análogos de Trp desvelados pueden comprender un componente de anillo aromático bicíclico sustituido o no sustituido o dos o más componentes de anillo aromático monocíclico sustituido o no sustituido. Aún otros análogos de Trp desvelados tienen mayor propensión a formar enlaces de hidrógeno con C3 en relación con Trp, pero no tienen mayor carácter hidrófobo en relación con Trp; por ejemplo, un análogo de Trp puede tener mayor polaridad en relación

con Trp y/o una mayor capacidad para participar en una interacción electrostática con un donante de enlaces de hidrógeno en C3. Los análogos de Trp con mayor carácter formador de enlaces de hidrógeno pueden comprender un sustituyente electronegativo en el anillo de indol.

- 5 Algunos análogos de compstatina desvelados comprenden uno o más análogos de Ala (p. ej., en la posición 9 en relación a la secuencia de compstatina), p. ej., análogos de Ala que son idénticos a Ala, excepto que incluyen uno o más grupos CH₂ en la cadena lateral; por ejemplo, un aminoácido metílico sencillo no ramificado tal como 2-Abu. Algunos análogos de compstatina desvelados comprenden uno o más análogos de Trp (p. ej., en la posición 4 y/o 7 en relación con la secuencia de compstatina) y un análogo de Ala (p. ej., en la posición 9 en relación con la secuencia 10 de compstatina).

Como se define en las reivindicaciones, el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención comprende una secuencia central de Gln-Asp-Xaa-Gly, donde Xaa es Trp. En ausencia de evidencia de lo contrario, un experto en la materia reconocería que cualquier péptido de origen no natural cuya secuencia comprenda esta secuencia central 15 y que inhiba la activación del complemento y/o se une a C3 se habrá diseñado basándose en la secuencia de compstatina. El péptido Gln-Asp-Xaa-Gly puede formar una vuelta β .

Con más detalle, el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención comprende un péptido que tiene 20 una secuencia central de X'aa-Gln-Asp-Xaa-Gly (SEQ ID NO: 3), donde X'aa es 1-metiltriptófano y Xaa es Trp. La secuencia central forma una vuelta β en el contexto del péptido. La vuelta β puede ser flexible, permitiendo que el péptido adopte dos o más conformaciones según se evalúa, por ejemplo, usando resonancia magnética nuclear (RMN). X'aa tiene un carácter hidrófobo aumentado en relación con Trp. Con más detalle, el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención comprende un péptido que tiene una secuencia central de X'aa-Gln-Asp-Xaa-Gly-X"aa (SEQ ID NO: 4), donde X'aa es 1-metiltriptófano y Xaa es Trp; y X"aa es Ala.

25 El péptido comprendido en el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención es cíclico. El péptido se cicla mediante un enlace entre dos aminoácidos, uno de los cuales es (X'aa)_n y el otro se encuentra dentro de (X"aa)_m como se define en el presente documento. La parte cíclica del péptido tiene 11 aminoácidos de longitud, con 30 un enlace disulfuro entre los aminoácidos en las posiciones 2 y 12. Un péptido que tiene 13 aminoácidos de longitud, con un enlace entre los aminoácidos en las posiciones 2 y 12 da como resultado una parte cíclica de 11 aminoácidos de longitud.

35 Con aún más detalle, el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención comprende un péptido que comprende la secuencia X'aa1 - X'aa2 - X'aa3 - X'aa4 - Gln-Asp-Xaa-Gly- X"aa1- X"aa2 - X"aa3- X"aa4- X"aa5 (SEQ ID NO: 5). En el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, como se define en las reivindicaciones, X'aa4 es 1-metiltriptófano y Xaa es Trp, y X'aa1, X'aa2, X'aa3, X"aa1, X"aa2, X"aa3, X"aa4 y X"aa5 son aminoácidos como se definen en las reivindicaciones. X"aa1 es Ala. El péptido se cicla mediante un enlace 40 covalente entre X'aa2 y X"aa4. Cada uno de los aminoácidos unidos covalentemente son Cys y el enlace covalente es un enlace disulfuro (S-S). Otros enlaces covalentes desvelados incluyen enlaces C-C, C-O, C-S y C-N.

45 También se desvelan en el presente documento compuestos en que uno de los residuos unidos covalentemente es un aminoácido o análogo de aminoácido que tiene una cadena lateral que comprende una amina primaria o secundaria, el otro residuo unido covalentemente es un aminoácido o análogo de aminoácido que tiene una cadena lateral que comprende un grupo de ácido carboxílico y el enlace covalente es un enlace amida. Los aminoácidos o análogos de aminoácidos que tienen una cadena lateral que comprende una amina primaria o secundaria incluyen lisina y ácidos diaminocarboxílicos de estructura general NH₂(CH₂)_nCH(NH₂)COOH tales como ácido 2,3-diaminopropiónico (dapa), ácido 2,4-diaminobutírico (daba) y ornitina (orn), en donde n = 1 (dapa), 2 (daba) y 3 (orn), respectivamente. Los ejemplos de aminoácidos que tienen una cadena lateral que comprende un grupo de ácido carboxílico incluyen aminoácidos dicarboxílicos tales como ácido glutámico y ácido aspártico, y análogos tales como 50 ácido beta-hidroxi-L-glutámico. Un péptido puede ciclarse con un enlace tioéter, p. ej., como se describe en el documento PCT/US2011/052442 (documento WO/2012/040259). Por ejemplo, un enlace disulfuro puede sustituirse por un enlace tioéter. Puede formarse una cistationina. La cistationina puede ser una delta-cistationina o una gamma-cistationina.

55 Una modificación desvelada comprende la sustitución de un enlace disulfuro Cys-Cys entre cisteínas en X'aa2 y X"aa4 en la SEQ ID NO: 5 (o posiciones correspondientes en otras secuencias) con la adición de un CH₂, para formar una homocisteína en X'aa2 o X"aa4, y la introducción de un enlace tioéter, para formar una cistationina, tal como una delta-cistationina. Otra modificación desvelada comprende la sustitución del enlace disulfuro por un enlace tioéter sin la adición de un CH₂, formando así una lantitionina. Un análogo de compstatina que tiene un tioéter en lugar de un enlace 60 disulfuro puede tener una estabilidad aumentada, al menos en algunas condiciones, en comparación con el análogo de compstatina que tiene el enlace disulfuro.

El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención comprende un péptido que tiene una secuencia:

65 Xaa1 - Cys - Val - Xaa2 - Gln - Asp - Xaa2* - Gly - Xaa3 - His - Arg - Cys - Xaa4 (SEQ ID NO: 6); en donde:

Xaa1 es B¹-Ile y B¹ representa un primer resto de bloqueo;

Xaa2 es 1-metiltriptófano y Xaa2* es Trp;

Xaa3 es Ala;

Xaa4 es L-Thr; y

5 los dos residuos de Cys están unidos por un enlace disulfuro.

El resto de bloqueo estabiliza el péptido frente a la degradación que de otro modo se produciría en la sangre o el líquido intersticial de mamíferos (por ejemplo, primate humano o no humano). En el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, el resto de bloqueo B¹ es un grupo acetilo, es decir, Xaa1 es Ac-Ile. En otros análogos 10 de compstatina desvelados, un -OH carboxi terminal de cualquiera de L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, Ala o Asn en la posición Xaa4 se sustituye opcionalmente por un segundo resto de bloqueo B².

Como se define adicionalmente en el presente documento, el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención está acetilado en el extremo N y amidado en el extremo C.

15 Por tanto, el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención comprende un péptido que tiene una secuencia:

20 Xaa1 - Cys - Val - Xaa2 - Gln - Asp - Xaa2 * - Gly - Xaa3 - His - Arg - Cys - Xaa4 (SEQ ID NO: 7); en donde:

Xaa1 es Ac-Ile;

Xaa2 es 1-metil triptófano y Xaa2 * es Trp;

Xaa3 es Ala;

Xaa4 es L-Thr; y los dos residuos de Cys están unidos por un enlace disulfuro.

25 La tabla 1 proporciona análogos de compstatina. Los análogos se mencionan en forma abreviada en la columna izquierda indicando modificaciones específicas en las posiciones designadas (1-13) en comparación con el péptido original, compstatina. De manera coherente con el uso en la técnica, "compstatina", como se usa en el presente documento, y las actividades de análogos de compstatina descritos en el presente documento en relación con la de 30 compstatina, se refieren al péptido de compstatina amidado en el extremo C. Salvo que se indique lo contrario, los péptidos en la tabla 1 están amidados en el extremo C. El texto en negrita se usa para indicar determinadas modificaciones. La actividad en relación con la compstatina se basa en los datos publicados y los ensayos descritos en los mismos (documentos WO2004/026328, WO2007044668, Mallik, 2005; Katragadda, 2006). Cuando se consultaron múltiples publicaciones que informaban sobre una actividad, se usa el valor publicado más recientemente 35 y se reconocerá que los valores pueden ajustarse en el caso de diferencias entre los ensayos. También se apreciará que los péptidos enumerados en la tabla 1 se ciclan mediante un enlace disulfuro entre los dos residuos Cys cuando se usan en composiciones terapéuticas. Los medios alternativos para ciclar los péptidos se desvelan anteriormente. Uno o más aminoácidos de cualquiera de los análogos de compstatina desvelados en la Tabla 1 puede ser un N-alquil 40 aminoácido (p. ej., un N-metil aminoácido). Por ejemplo, y sin limitación, al menos un aminoácido dentro de la parte cíclica del péptido, al menos un aminoácido N-terminal con respecto a la parte cíclica y/o al menos un aminoácido C-terminal con respecto a la parte cíclica puede ser un N-alquil aminoácido, p. ej., un N-metil aminoácido. Por ejemplo, los análogos de compstatina desvelados pueden comprender una N-metilglicina, p. ej., en la posición correspondiente a la posición 8 de compstatina y/o en la posición correspondiente a la posición 13 de compstatina. Uno o más de los 45 análogos de compstatina en la tabla 1 pueden contener al menos una N-metilglicina, p. ej., en la posición correspondiente a la posición 8 de compstatina y/o en la posición correspondiente a la posición 13 de compstatina. Uno o más de los análogos de compstatina en la tabla 1 pueden contener al menos una N-metiloleucina, p. ej., en la posición correspondiente a la posición 13 de compstatina. Por ejemplo, un Thr en o cerca del extremo C-terminal de 50 un péptido cuya secuencia se enumera en la tabla 1 o cualquier otra secuencia análoga de compstatina puede reemplazarse por N-metil Ile. Los aminoácidos N-metilados pueden comprender N-metil Gly en la posición 8 y N-metil Ile en la posición 13. Los aminoácidos N-metilados pueden comprender N-metil Gly en una secuencia central tal como la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4. Los aminoácidos N-metilados pueden comprender N-metil Gly en una secuencia central tal como la SEQ ID NO: 5, la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 7.

Tabla 1

Péptido	Secuencia	SEQ ID NO:	Actividad sobre compstatina
Compstatina	H-ICVVQDWGHHRCT-CONH ₂	8	*
Ac-compstatina	Ac-ICVVQDWGHHRCT-CONH ₂	9	3 veces más
Ac-V4Y/H9A	Ac-ICVYQDWG A HRCT-CONH ₂	10	14 veces más
Ac-V4W/H9A-OH	Ac-ICVWQDWG A HRCT-COOH	11	27 veces más
Ac-V4W/H9A	Ac-ICVWQDWG A HRCT-CONH ₂	12	45 veces más
Ac-V4W/H9A/T13dT-OH	Ac-ICVWQDWG A HR CdT -COOH	13	55 veces más
Ac-V4(2-Nal)/H9A	Ac-ICV(2-Nal)QDWG A HRCT-CONH ₂	14	99 veces más
Ac V4(2-Nal)/H9A -OH	Ac-ICV(2-Nal)QDWG A HRCT-COOH	15	38 veces más
Ac V4(1-Nal)/H9A -OH	Ac-ICV(1-Nal)QDWG A HRCT-COOH	16	30 veces más

(continuación)

Péptido	Secuencia	SEQ ID NO:	Actividad sobre compstatina
Ac-V42Igl/H9A	Ac-ICV(2-lgl)QDWGAHRCT-CONH ₂	17	39 veces más
Ac-V42Ipl/H9A-OH	Ac-ICV(2-lgl)QDWGAHRCT-COOH	18	37 veces más
Ac-V4Dht/H9A-OH	Ac-ICV Dht QDWGAHRCT-COOH	19	5 veces más
Ac-V4(Bpa)/H9A-OH	Ac-ICV(Bpa)QDWGAHRCT-COOH	20	49 veces más
Ac-V4(Bpa)/H9A	Ac-ICV(Bpa)QDWGAHRCT-CONH ₂	21	86 veces más
Ac-V4(Bta)/H9A-OH	Ac-ICV(Bta)QDWGAHRCT-COOH	22	65 veces más
Ac-V4(Bta)/H9A	Ac-ICV(Bta)QDWGAHRCT-CONH ₂	23	64 veces más
Ac-V4W/H9(2-Abu)	Ac-ICV W QDWG(2- Abu)HRCT-CONH ₂	24	64 veces más
+G/V4W/H9A+AN-OH	H-GICV W QDWG A HRCT AN -COOH	25	38 veces más
Ac-V4(5fW)/H9A	Ac-ICV(5fW)QDWGAHRCT-CONH ₂	26	31 veces más
Ac-V4(5-MeW)/H9A	Ac-ICV(5-metil-W)QDWGAHRCT-CONH ₂	27	67 veces más
Ac-V4(1-Mew)/H9A	Ac-ICV(1-metil-W)QDWGAHRCT-CONH ₂	28	264 veces más
Ac-V4W/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV W QD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	29	121 veces más
Ac-V4(5fW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(5fW)QD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	30	ND
Ac-V4(5-MeW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(5-metil-W)QD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	31	ND
Ac-V4(1-MeW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(1-metil-W)QD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	32	264 veces más
+G/V4(6fW)/W7(6fW)/H9A+ N-OH	H-GICV(6fW)QD(6fW)GAHRCT N -COOH	33	126 veces más
Ac-V4(1-formil-W)/H9A	Ac-ICV(1-formil-W)QDWGAHRCT-CONH ₂	34	264 veces más
Ac-V4(5-metoxi-W)/H9A	Ac-ICV(1-metoxi-W)QDWGAHRCT-CONH ₂	35	76 veces más
G/V4(5f-W)/W7(5fW)/H9A+N-OH	H-GICV(5fW)QD(5fW)GAHRCT N -COOH	36	112 veces más
ND = no disponible			

El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención comprende un resto análogo de compstatina que comprende un péptido que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 28, extendido por un resto de lisina en el extremo C, en donde el resto de lisina está separado de la porción cíclica del péptido por un espaciador de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEAc).

Otros análogos de compstatina desvelados pueden tener una secuencia seleccionada de las secuencias 9-36; p. ej. una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 14, 21, 29, 32, 33, 34 y 36; o una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 30 y 31; o una secuencia de la SEQ ID NO: 32; o una secuencia de la SEQ ID NO: 34; o una secuencia de la SEQ ID NO: 36.

Un resto bloqueante B¹ desvelado puede comprender un aminoácido, que se puede representar como Xaa0. Un resto bloqueante B² desvelado puede comprender un aminoácido, que se puede representar como XaaN. B¹ y/o B² pueden comprender un aminoácido no convencional, tal como un D-aminoácido, N-alquil aminoácido (p. ej., N-metil aminoácido). B¹ y/o B² pueden comprender un aminoácido no convencional que es un análogo de un aminoácido convencional. Un análogo de aminoácido puede comprender un sustituyente de alquilo inferior, alcoxi inferior o halógeno, en comparación con un aminoácido convencional del que es un análogo. Un sustituyente puede estar en una cadena lateral. Un sustituyente puede estar en un átomo de carbono alfa. Un resto bloqueante B¹ que comprende un aminoácido, p. ej., un aminoácido no convencional, puede comprender además un resto B^{1a}. Por ejemplo, un resto bloqueante B¹ se puede representar como B^{1a}-Xaa0. B^{1a} puede neutralizar o reducir una carga positiva que de otro modo puede estar presente en el extremo N a pH fisiológico. B^{1a} puede comprender o consistir en, p. ej., un grupo acilo que, p. ej., comprende entre 1 y 12 carbonos, p. ej., entre 1 y 6 carbonos. B^{1a} puede seleccionarse del grupo que consiste en: formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, valerilo, isovalerilo, etc. Un resto bloqueante B² que comprende un aminoácido, p. ej., un aminoácido no convencional, puede comprender además un resto B^{2a}. Por ejemplo, un resto bloqueante B² puede representarse como XaaN-B^{2a}, donde N representa el número apropiado para el aminoácido (que dependerá de la numeración utilizada en el resto del péptido). B^{2a} puede neutralizar o reducir una carga negativa que de otro modo podría estar presente en el C-terminal a pH fisiológico. B^{2a} puede comprender o consistir en una amina primaria o secundaria (p. ej., NH₂). Una actividad bloqueante del resto B^{1a}-Xaa0 y/o XaaN-B^{2a} puede ser proporcionada por uno o ambos componentes del resto. Un resto bloqueante o parte del mismo, p. ej., un residuo de aminoácido puede contribuir a aumentar la afinidad del compuesto por C3 o C3b y/o mejorar la actividad del compuesto. Una contribución a la afinidad o actividad de un residuo de aminoácido puede ser al menos tan importante como una contribución a la actividad de bloqueo. Por ejemplo, Xaa0 y/o XaaN en B^{1a}-Xaa0 y/o XaaN-B^{2a} pueden actuar principalmente para aumentar la afinidad o actividad del compuesto, mientras que B^{1a} y/o B^{2a} pueden inhibir la digestión y/o neutralizar una carga del péptido. Un análogo de compstatina desvelado puede comprender la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 5-36, en donde las SEQ ID NO: 5-36 se extienden adicionalmente en el extremo N y/o C. Dicha secuencia se puede representar como B^{1a}-Xaa0-SECUENCIA-XaaN-B^{2a},

- 5 donde SECUENCIA representa cualquiera de las SEQ ID NO: 5-36, en donde B^{1a} y B^{2a} puede estar de manera independiente presente o ausente. Por ejemplo, un análogo de compstatina desvelado comprende B^{1a}-Xaa0-X'aa1-X'aa2-X'aa3-X'aa4-Gln-Asp-Xaa-Gly-X"aa1-X"aa2-X"aa3-X"aa4-X"aa5-XaaN-B^{2a} (SEQ ID NO: 37A), donde X'aa1-X'aa2-X'aa3-X'aa4, Xaa, X"aa1, X"aa2, X"aa3, X"aa4 y X"aa5 son como se ha expuesto anteriormente para la SEQ ID NO: 5.
- 10 Un análogo de compstatina desvelado comprende B^{1a}-Xaa0-Xaa1-Cys-Val-Xaa2-Gln-Asp-Xaa2*-Gly-Xaa3-His-Arg-Cys-Xaa4-XaaN-B^{2a} (SEQ ID NO: 38A), donde Xaa1, Xaa2, Xaa2*, Xaa3 y Xaa4 son como se ha expuesto anteriormente para la SEQ ID NO: 6 o en donde Xaa1, Xaa2, Xaa2*, Xaa3 y Xaa4 son como se ha expuesto para la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 7.
- 15 Un análogo de compstatina desvelado comprende B^{1a}-Xaa0-Xaa1-Xaa2-Xaa3-Xaa4-Xaa5-Xaa6-Xaa7-Xaa8-Xaa9-Xaa10-Xaa11-Xaa12-Xaa13-XaaN-B^{2a} (SEQ ID NO: 39A) en donde Xaa1, Xaa2, Xaa3, Xaa4, Xaa5, Xaa6, Xaa7, Xaa8, Xaa9, Xaa10, Xaa11, Xaa12 y Xaa13 son idénticos a los aminoácidos en las posiciones 1-13 de cualquiera de las SEQ ID NO: 9-36.
- 20 Xaa0 y/o XaaN en las secuencias de análogo de compstatina desvelado puede comprender comprende un aminoácido que comprende un anillo aromático que tiene un sustituyente alquilo en una o más posiciones. Un sustituyente alquilo puede ser un sustituyente alquilo inferior tal como un grupo metilo o etilo. Dicho sustituyente puede estar ubicado en cualquier posición que no destruya el carácter aromático del compuesto o el carácter aromático de un anillo con el que está unido el sustituyente. Dicho sustituyente puede estar ubicado en la posición 1, 2, 3, 4 o 5. En algunos aspectos desvelados Xaa0 puede comprender un análogo O-metílico de tirosina, 2-hidroxifenilalanina o 3-hidroxifenilalanina. Para los fines de la presente divulgación, una "m" minúscula seguida de una abreviatura de aminoácidos de tres letras se puede usar para indicar específicamente que un aminoácido es un N-metil aminoácido. Por ejemplo, cuando la abreviatura "mGly" aparece en el presente documento, indica N-metilglicina (también denominada en ocasiones sarcosina o Sar). En algunos aspectos desvelados, Xaa0 puede ser o comprender mGly, Tyr, Phe, Arg, Trp, Thr, Tyr(Me), Cha, mPhe, mVal, mIle, mAla, DTyr, DPhe, DArg, DTrp, DThr, DTyr(Me), mPhe, mVal, mIle, DAla o DCha. Por ejemplo, un análogo de compstatina desvelado comprende un péptido que tiene una secuencia B¹-Ile-[Cys-Val-Trp(Me)-Gln-Asp-Trp-mGly-Ala-His-Arg-Cys]-mIle-B² (SEQ ID NO: 40A) o B¹-Ile-[Cys-Val-Trp(Me)-Gln-Asp-Trp-mGly-Ala-His-Arg-Cys]-mIle-B² (SEQ ID NO: 41A). Los dos residuos Cys están unidos por un enlace disulfuro en los compuestos activos. El péptido puede estar acetilado en el extremo N y/o se amida en el extremo C. B¹ puede comprender B^{1a}-Xaa0 y/o B² puede comprender XaaN-B^{2a}, como se ha desvelado anteriormente. B¹ puede comprender o consistir en Gly, mGly, Tyr, Phe, Arg, Trp, Thr, Tyr(Me), mPhe, mVal, mIle, mAla, DTyr, DPhe, DTrp, DCha, DAla y B² puede comprender NH₂, p. ej., un -OH carboxilo terminal de mIle puede reemplazarse por NH₂. B¹ puede comprender o consistir en mGly, Tyr, DTyr o Tyr(Me) y B² puede comprender NH₂, p. ej., un -OH carboxilo terminal de mIle puede reemplazarse por NH₂. Una Ile en la posición Xaa1 puede reemplazarse por Gly.
- 40 La potencia de inhibición del complemento y/o los parámetros de unión a C3b de análogos de compstatina seleccionados se describen en el documento WO/2010/127336 (PCT/US2010/033345) y/o en Qu, *et al.*, Immunobiology (2012), doi:10.1016/j.imbio.2012.06.003.
- 45 Un resto bloqueante o parte del mismo, p. ej., un residuo de aminoácido puede contribuir a aumentar la afinidad del compuesto por C3 o C3b y/o mejorar la actividad del compuesto. Una contribución a la afinidad o actividad de un aminoácido o análogo de aminoácido puede ser más significativa que una actividad bloqueante.
- 50 Determinados análogos de compstatina desvelados tienen una secuencia como se expone en la tabla 1, pero donde el grupo Ac se reemplaza por un resto bloqueante B¹ alternativo. El grupo -NH₂ puede reemplazarse por un resto bloqueante B² alternativo.
- 55 El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención se une sustancialmente con la misma región de la cadena β de C3 humano que la compstatina. El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención puede unirse con un fragmento de la parte C-terminal de la cadena β de C3 humano que tiene un peso molecular de aproximadamente 40 kDa con el que se une la compstatina (Soulka, A.M., *et al.*, Mol. Immunol., 35:160, 1998; Soulka, A.M., *et al.*, Mol. Immunol. 43(12): 2023-9, 2006). El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención puede unirse al sitio de unión de compstatina según lo determinado en una estructura de compstatina-C3, p. ej., una estructura cristalina o una estructura tridimensional obtenida por RMN. El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención puede sustituir a la compstatina en una estructura de compstatina-C3 y formar sustancialmente los mismos contactos intermoleculares con C3 que la compstatina. El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención puede unirse con el sitio de unión de un péptido que tiene una secuencia expuesta en la tabla 1, p. ej., SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, 32, 33, 34 o 36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A u otra secuencia análoga de compstatina desvelada en el presente documento en una estructura de péptido-C3, p. ej., una estructura cristalina. El análogo de compstatina puede unirse con el sitio de unión de un péptido que tiene la SEQ ID NO: 30 o 31 en una estructura de péptido-C3, p. ej., una estructura cristalina. El análogo de compstatina puede sustituir el péptido de las SEQ ID NO: 9-36, p. ej., un compuesto que puede sustituir el péptido de las SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, 32, 33, 34 o 36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A, u otra secuencia análoga de compstatina desvelada en el presente documento en una estructura de péptido-C3 y formar sustancialmente los mismos contactos intermoleculares con C3 que el péptido.

El análogo de compstatina puede sustituir el péptido de las SEQ ID NO: 30 o 31 en una estructura de péptido-C3 y formar sustancialmente los mismos contactos intermoleculares con C3 que el péptido.

- 5 Un experto habitual en la materia podrá determinar fácilmente si un análogo de compstatina se une con un fragmento de la parte C-terminal de la cadena β de C3 utilizando métodos experimentales rutinarios. Por ejemplo, un experto en la materia podría sintetizar una versión fotorreticulable del análogo de compstatina mediante la inclusión de un aminoácido fotorreticulante tal como p-benzoyl-L-fenilalanina (Bpa) en el compuesto, p. ej., en el extremo C de la secuencia (Soulka, A.M., *et al.*, mencionado anteriormente). Opcionalmente, se podrían incluir aminoácidos adicionales, p. ej., un marcador epitópico tal como un marcador FLAG o un marcador HA para facilitar la detección del compuesto, p. ej., mediante transferencia de Western. El análogo de compstatina se incuba con el fragmento y se inicia la reticulación. La localización conjunta del análogo de compstatina y el fragmento C3 indica unión. También se puede usar resonancia de plasmón superficial para determinar si un análogo de compstatina se une con el sitio de unión a compstatina en C3 o un fragmento del mismo. Un experto en la materia podría usar programas de software de modelado molecular para predecir si un compuesto formaría sustancialmente los mismos contactos intermoleculares con C3 que compstatina o un péptido que tenga la secuencia de cualquiera de los péptidos en la tabla 1, p. ej., SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, 32, 33, 34 o 36 o SEQ ID NO: 30 o 31, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A, u otra secuencia análoga de compstatina desvelada en el presente documento.
- 10 Los análogos de compstatina pueden prepararse mediante diversos métodos sintéticos de síntesis de péptidos conocidos en la técnica mediante condensación de residuos de aminoácidos, p. ej., de acuerdo con métodos convencionales de síntesis de péptidos, pueden prepararse mediante expresión *in vitro* o en células vivas a partir de secuencias de ácido nucleico adecuadas que los codifican usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los péptidos pueden sintetizarse usando metodologías convencionales de fase sólida como se describe en Malik, mencionado anteriormente, Katragadda, mencionado anteriormente, documentos WO2004026328 y/o WO2007062249. Los restos potencialmente reactivos tales como grupos amino y carboxilo, grupos funcionales reactivos, etc., puede protegerse y posteriormente desprotegerse usando diversos grupos protectores y metodologías conocidas en la técnica. Véase, p. ej., "Protective Groups in Organic Synthesis", 3^a ed. Greene, T. W. y Wuts, P. G., Eds., John Wiley & Sons, Nueva York: 1999. Los péptidos pueden purificarse usando enfoques convencionales tales como HPLC de fase inversa. Se puede realizar separación de péptidos diastereoméricos, si se desea, usando métodos conocidos tales como HPLC de fase inversa. Las preparaciones pueden liofilizarse, si se desea, y posteriormente disolverse en un disolvente adecuado, p. ej., agua. El pH de la solución resultante se puede ajustar, p. ej., a pH fisiológico, usando una base tal como NaOH. Las preparaciones de péptidos se pueden caracterizar mediante espectrometría de masas, si se desea, p. ej., para confirmar la masa y/o formación de enlaces disulfuro. Véase, p. ej., Mallik, 2005 y Katragadda, 2006.
- 15 Los análogos de compstatina reactivos con células son compuestos que comprenden un resto análogo de compstatina y un grupo funcional reactivo con células que es capaz de reaccionar con un grupo funcional expuesto en la superficie de una célula, p. ej., en condiciones fisiológicas, para formar un enlace covalente. El análogo de compstatina reactivo con células se une, por tanto, de manera covalente con la célula. Sin desear quedar ligado a ninguna teoría particular, un análogo de compstatina unido a la célula puede proteger a la célula del daño mediado por el complemento mediante, por ejemplo, unión con C3 (que puede estar en forma de C3(H₂O)) en la superficie celular y/o en las proximidades de la célula e inhibición de la escisión y activación de C3, y/o mediante unión con C3b e inhibición de su deposición en la célula o participación en la cascada de activación del complemento. Las células aisladas pueden ponerse en contacto con un análogo de compstatina reactivo con células *ex vivo* (fuera del cuerpo). Las células pueden estar presentes en un tejido u órgano aislado, p. ej., un tejido u órgano para trasplantar a un sujeto. Dichas células pueden ponerse en contacto con un análogo de compstatina reactivo con células *in vivo*, administrando el análogo de compstatina reactivo con células a un sujeto. El análogo de compstatina reactivo con células se une covalentemente con células *in vivo*. En consecuencia, las células, los tejidos y/o los órganos pueden protegerse de los efectos nocivos de la activación del complemento durante al menos dos semanas, sin necesidad de volver a tratar durante ese tiempo.
- 20 Los análogos de compstatina que comprenden un resto de direccionamiento que se une de manera no covalente con una molécula diana presente en la superficie de células o tejidos o con una sustancia extracelular no unida con células o tejidos pueden denominarse en el presente documento "análogos de compstatina dirigidos". Con frecuencia, la molécula diana es una proteína o un hidrato de carbono unido con la membrana celular y expuesta en la superficie celular. El resto de direccionamiento dirige el análogo de compstatina a una célula, un tejido o una ubicación susceptible de activación del complemento. Las células aisladas pueden ponerse en contacto con un análogo de compstatina dirigido *ex vivo* (fuera del cuerpo). Las células pueden estar presentes en un tejido u órgano aislado, p. ej., un tejido u órgano para trasplantar a un sujeto. Un análogo de compstatina dirigido puede administrarse a un sujeto y unirse de manera no covalente a una célula, tejido o sustancia extracelular *in vivo*. En consecuencia, las células, los tejidos y/o los órganos pueden protegerse de los efectos nocivos de la activación del complemento durante al menos dos semanas, sin necesidad de volver a tratar durante ese tiempo. Un análogo de compstatina dirigido puede comprender tanto un resto de direccionamiento como un resto reactivo con células. El resto de direccionamiento dirige el análogo de compstatina, p. ej., a un tipo celular particular, uniéndose de manera no covalente con una molécula en dichas células. El resto reactivo con células se une de manera covalente con la célula o sustancia extracelular. Como alternativa, un análogo de compstatina dirigido puede no comprender un resto reactivo con células.
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

- El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención es un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un resto de polietilenglicol (PEG), para estabilizar el compuesto, reducir su inmunogenicidad, aumentar su vida útil en el cuerpo, aumentar o disminuir su solubilidad y/o aumentar su resistencia a la degradación. El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención comprende un PEG que tiene 5 un peso molecular promedio de 40 kD y que está unido a cada uno de los dos restos análogos de compstatina como se describe con más detalle en el presente documento. Se conocen bien en la técnica métodos para pegilación (Veronese, F. M. y Harris, Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 453-456, 2002; Davis, F. F., Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 457-458, 2002; Hinds, K. D. y Kim, S. W. Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 505-530 (2002; Roberts, M. J., Bentley, M. D. y Harris, J. M. Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 459-476; 2002); Wang, Y. S. *et al.* Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 547-570, 2002). Una amplia 10 diversidad de polímeros, tales como PEG y PEG modificados, incluyendo PEG derivatizados con los que los polipéptidos se pueden unir convenientemente, se describen en el Catálogo de productos de Nektar Advanced Pegylation 2005-2006, Nektar Therapeutics, San Carlos, CA, que también proporciona detalles de procedimientos de conjugación adecuados.
- 15 El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención consiste en dos restos análogos de compstatina unidos a un resto reductor del aclaramiento que comprende un polímero que es PEG que tiene un peso molecular promedio de 40 kD mediante un carbamato, como se describe con más detalle en el presente documento. Por tanto, los restos análogos de compstatina se unen covalentemente al polímero. Los restos análogos de compstatina son idénticos. Por tanto, el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención comprende dos casos, o 20 copias, de un único resto análogo de compstatina como se define en el presente documento. El número de restos análogos de compstatina ("n") es por tanto 2.

En el análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, cada resto análogo de compstatina se extiende mediante un residuo Lys en el extremo C del análogo de compstatina. El residuo de Lys se separa de la parte cíclica 25 del análogo de compstatina mediante un espaciador de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEAc).

En otros análogos de compstatina desvelados se puede usar cualquiera de diversas estructuras o armazones poliméricos. Por ejemplo, las cadenas principales poliméricas o armazones desvelados pueden ser una poliamida, 30 polisacárido, polianhídrido, poliacrilamida, polimetacrilato, polipéptido, óxido de polietileno o dendrímero. Se describen métodos y cadenas principales poliméricas adecuados, p. ej., en los documentos WO98/46270 (PCT/US98/07171) o WO98/47002 (PCT/US98/06963). Las cadenas principales poliméricas o armazones desvelados pueden comprender múltiples grupos funcionales reactivos, tales como ácidos carboxílicos, anhídrido o grupos succinimida. La cadena principal polimérica o el armazón puede hacerse reaccionar con los análogos de compstatina. Un análogo de 35 compstatina desvelado puede comprender cualquiera de varios grupos funcionales reactivos diferentes, tales como grupos de ácidos carboxílicos, anhídrido o succinimida, que se hacen reaccionar con grupos apropiados en la cadena principal polimérica. Como alternativa, las unidades monoméricas que podrían unirse entre sí para formar una cadena principal polimérica o armazón pueden hacerse reaccionar en primer lugar con los análogos de compstatina y los monómeros resultantes pueden polimerizarse. Las cadenas cortas pueden estar prepolimerizadas, funcionalizadas y 40 después puede ensamblarse una mezcla de cadenas cortas de diferente composición en polímeros más largos.

IV. Miméticos de compstatina

La estructura de compstatina se conoce en la técnica y también se conocen estructuras de RMN para varios análogos de compstatina que tienen mayor actividad que la compstatina (Malik, mencionado anteriormente). Se puede usar 45 información estructural para diseñar miméticos de compstatina.

Se desvela en el presente documento un mimético de compstatina que es cualquier compuesto que compita con compstatina o cualquier análogo de compstatina (p. ej., un análogo de compstatina cuya secuencia se expone en la 50 tabla 1) por la unión con C3 o un fragmento del mismo (tal como un fragmento de 40 kD de la cadena β con el que se une la compstatina). Un mimético de compstatina desvelado puede tener una actividad igual o mayor que la de compstatina. Un mimético de compstatina desvelado puede ser más estable, disponible por vía oral o tener una mejor biodisponibilidad que la compstatina. Un mimético de compstatina puede ser un péptido, ácido nucleico o molécula 55 pequeña. Un mimético de compstatina desvelado puede ser un compuesto que se une con el sitio de unión de compstatina según lo determinado en una estructura de compstatina-C3, p. ej., una estructura cristalina o una estructura tridimensional obtenida de experimentos de RMN. Un mimético de compstatina desvelado puede ser un compuesto que podría sustituir la compstatina en una estructura de compstatina-C3 y formaría sustancialmente los mismos contactos intermoleculares con C3 que la compstatina. Un mimético de compstatina desvelado puede ser un compuesto que se une con el sitio de unión de un péptido que tiene una secuencia expuesta en la tabla 1, p. ej., SEQ 60 ID NO: 14, 21, 28, 29, 32, 33, 34 o 36 o, por ejemplo, SEQ ID NO: 30 o 31 u otra secuencia análoga de compstatina, en una estructura de péptido-C3. Un mimético de compstatina desvelado puede ser un compuesto que podría sustituir un péptido que tiene una secuencia expuesta en la tabla 1, p. ej., SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, 32, 33, 34 o 36 o, por ejemplo, SEQ ID NO: 30 o 31 u otra secuencia análoga de compstatina, en una estructura de péptido-C3 y formaría sustancialmente los mismos contactos intermoleculares con C3 que el péptido. Un mimético de compstatina desvelado 65 puede tener una cadena principal no peptídica, pero tener cadenas laterales dispuestas en una secuencia diseñada en función de la secuencia de compstatina.

- Un experto en la materia apreciará que una vez que se ha determinado una conformación particular deseada de un péptido corto, se conocen bien métodos para diseñar un péptido o peptidomimético para ajustarse a esa conformación. Véase, p. ej., G. R. Marshall (1993), *Tetrahedron*, 49: 3547-3558; Hruby y Nikiforovich (1991), en *Molecular Conformation and Biological Interactions*, P. Balařam y S. Ramasehan, eds., Indian Acad. of Sci., Bangalore, PP. 429-455), Eguchi M, Kahn M., *Mini Rev Med Chem.*, 2 (5): 447-62, 2002. El diseño de los análogos peptídicos puede refinarse adicionalmente teniendo en cuenta la contribución de diversas cadenas laterales de residuos de aminoácidos, p. ej., para el efecto de grupos funcionales o por consideraciones estéricas como se describe en la técnica para compstatina y análogos de la misma, entre otros.
- 10 Los expertos en la materia apreciarán que un mimético peptídico puede actuar igualmente bien como un péptido con el fin de proporcionar la conformación de cadena principal específica y las funcionalidades de cadena lateral necesarias para unirse con C3 e inhibir la activación del complemento. En consecuencia, se desvela en el presente documento el concepto de producir y utilizar la unión con C3, compuestos inhibidores del complemento mediante el uso de aminoácidos de origen natural, derivados de aminoácidos, análogos o moléculas no aminoacídicas capaces de unirse para formar la conformación de cadena principal adecuada. Un análogo no peptídico, o un análogo que comprenda componentes peptídicos y no peptídicos, se denomina en ocasiones en el presente documento "peptidomimético" o "mimético isostérico", para designar sustituciones o derivaciones de un péptido que posee casi las mismas características conformativas de cadena principal y/u otras funcionalidades, para que sea suficientemente similar a los péptidos exemplificados para inhibir la activación del complemento. De manera más general, un mimético de compstatina es cualquier compuesto que sitúe farmacóforos de manera similar a su situación en compstatina, incluso si la cadena principal difiere.
- 15 El uso de peptidomiméticos para el desarrollo de análogos peptídicos de alta afinidad se conoce bien en la técnica. Suponiendo restricciones rotacionales similares a las de residuos de aminoácidos dentro de un péptido, pueden analizarse análogos que comprenden restos distintos de aminoácidos y verificarse sus motivos conformativos, por medio del diagrama de Ramachandran (Hruby y Nikiforovich 1991), entre otras técnicas conocidas.
- 20 25 Un experto en la materia podrá establecer fácilmente ensayos de exploración adecuados para identificar miméticos de compstatina adicionales y seleccionar los que tienen actividades inhibidoras deseadas. Por ejemplo, la compstatina o un análogo de la misma podría marcarse (p. ej., con un marcador radioactivo o fluorescente) y ponerse en contacto con C3 en presencia de diferentes concentraciones de un compuesto de prueba. Se evalúa la capacidad del compuesto de prueba para disminuir la unión del análogo de compstatina con C3. Un compuesto de prueba que disminuye significativamente la unión del análogo de compstatina con C3 es un mimético de compstatina candidato. Por ejemplo, un compuesto de prueba que disminuye la concentración en estado estacionario de un complejo de análogo de compstatina-C3 o que disminuye la tasa de formación de un complejo de análogo de compstatina-C3 en al menos 25 % o en al menos 50 %, es un mimético de compstatina candidato. Un experto en la materia reconocerá que se pueden emplear varias variaciones de este ensayo de exploración. Los compuestos para explorar incluyen productos naturales, bibliotecas de aptámeros, bibliotecas de presentación en fagos, bibliotecas de compuestos sintetizadas usando química combinatoria, etc. Se desvela en el presente documento la síntesis de una biblioteca combinatoria de compuestos basada en la secuencia central descrita anteriormente y la exploración de la biblioteca para identificar miméticos de compstatina. Cualquiera de estos métodos también podría usarse para identificar nuevos análogos de compstatina que tengan mayor actividad inhibidora que los análogos de compstatina probados hasta ahora.
- 30 35 40 45 **V. Análogos de compstatina reactivos con células o de acción prolongada**
- En el presente documento también se desvelan análogos de compstatina reactivos con células. Un análogo de compstatina reactivo con células puede comprender un compuesto de fórmula A-L-M, en donde A es un resto que comprende un grupo funcional reactivo con células J, L es una parte de unión opcionalmente presente y M comprende un resto análogo de compstatina. Dicho resto análogo de compstatina desvelado puede comprender cualquier análogo de compstatina, p. ej., cualquier análogo de compstatina descrito anteriormente. La fórmula A-L-M abarca variantes en las que A-L está presente en el extremo N del resto análogo de compstatina, variantes en las que A-L está presente en el extremo C del resto análogo de compstatina, variantes en las que A-L está unido con una cadena lateral de un aminoácido del resto análogo de compstatina, y variantes donde los mismos o distintos A-L están presentes en ambos extremos de M. En un compuesto desvelado de fórmula A-L-M, un grupo funcional del análogo de compstatina habrá reaccionado con un grupo funcional de L para formar un enlace covalente con A o L. Por ejemplo, un análogo de compstatina reactivo con células desvelado en el que el resto análogo de compstatina comprende un análogo de compstatina que contiene un aminoácido con una cadena lateral que contiene un grupo de amina primaria (NH₂) (cuyo análogo de compstatina puede representarse mediante la fórmula R¹-(NH₂)), puede tener una fórmula R¹-NH-L-A en el que se ha formado un nuevo enlace covalente con L (p. ej., N-C) y se ha perdido un hidrógeno. Por tanto, la expresión "resto análogo de compstatina" incluye estructuras moleculares en las que al menos un átomo de un análogo de compstatina participa en un enlace covalente con un segundo resto, p. ej., mediante modificación de una cadena lateral. Se aplican consideraciones similares a los restos análogos de compstatina presentes en compuestos multivalentes como se describe anteriormente. En el presente documento se desvela un resto bloqueante en el extremo N o extremo C de un análogo de compstatina, p. ej., un análogo de compstatina descrito en la sección IV anterior, reemplazado por A-L en la estructura de un análogo de compstatina reactivo con células. En aspectos

- desvelados, A o L pueden comprender un resto bloqueante. Un análogo de compstatina reactivo con células desvelado puede tener una actividad molar de al menos aproximadamente 10 %, 20 % o 30 %, p. ej., entre 30 % y 40 %, entre 30 % y 50 %, entre 30 % y 60 %, entre 30 % y 70 %, entre 30 % y 80 %, entre 30 % y 90 %, o más, de la actividad de un análogo de compstatina correspondiente que tiene la misma secuencia de aminoácidos (y, si procede, uno o más restos bloqueantes) pero que no comprende un resto reactivo con células. Los análogos de compstatina reactivos con células desvelados pueden comprender múltiples restos análogos de compstatina, y la actividad molar del análogo de compstatina reactivo con células puede ser al menos aproximadamente 10 %, 20 % o 30 %, p. ej., entre 30 % y 40 %, entre 30 % y 50 %, entre 30 % y 60 %, entre 30 % y 70 %, entre 30 % y 80 %, entre 30 % y 90 %, o más, de la suma de las actividades de dichos restos análogos de compstatina.
- En aspectos desvelados, el resto reactivo con células A puede comprender cualquiera de diversos grupos funcionales diferentes reactivos con células J. En general, un grupo funcional reactivo con células puede seleccionarse en función al menos en parte de factores tales como (a) el grupo funcional particular que va a ser diana; (b) la capacidad del grupo funcional reactivo para reaccionar con el grupo funcional diana en condiciones *ex vivo* fisiológicamente aceptables (p. ej., pH y osmolaridad fisiológicamente aceptables) y/o condiciones *in vivo* (p. ej., en sangre); (c) la especificidad de la reacción entre el grupo funcional reactivo y el grupo funcional diana en condiciones *ex vivo* fisiológicamente aceptables y/o *in vivo*; (d) la estabilidad (p. ej., en condiciones *in vivo*) del enlace covalente que resultaría de la reacción del grupo funcional reactivo con su grupo funcional diana; (e) la facilidad de sintetizar un análogo de compstatina reactivo con células que comprende el grupo funcional reactivo, etc. Se puede seleccionar un grupo funcional reactivo que reacciona con su grupo químico diana sin liberar un grupo saliente. Se puede seleccionar un grupo funcional reactivo que da como resultado la liberación de un grupo saliente tras la reacción con una diana. Los compuestos que contienen dichos grupos pueden ser útiles, p. ej., para supervisar el progreso y/o el alcance de una reacción. Un grupo saliente puede ser fisiológicamente aceptable para células, tejidos u órganos en la cantidad generada (p. ej., en función de la concentración y/o la cantidad absoluta generada) y/o es médicaamente aceptable para un sujeto en la cantidad generada *in vivo* (p. ej., en función de la concentración en un líquido corporal relevante tal como sangre y/o en función de la cantidad absoluta generada). Un grupo saliente generado *ex vivo* puede eliminarse al menos en parte, p. ej., lavando células o lavando o perfundiendo un tejido u órgano, p. ej., con solución salina.
- Un grupo funcional reactivo con células desvelado puede reaccionar con una cadena lateral de un residuo de aminoácido y/o con un grupo amino N-terminal o un grupo carboxilo C-terminal de una proteína. El grupo funcional reactivo con células puede ser reactivo con grupos sulfhidrilo (-SH), que se encuentran en las cadenas laterales de residuos de cisteína. Se puede usar un grupo maleimida. Los grupos maleimida reaccionan con grupos sulfhidrilo de residuos de cisteína de proteínas a pH fisiológico y forman un enlace tioéter estable. Se puede usar un grupo haloacetilo, tal como un grupo yodoacetilo o bromoacetilo. Los haloacetilos reaccionan con grupos sulfhidrilo a pH fisiológico. La reacción del grupo yodoacetilo se produce por sustitución nucleófila de yodo con un átomo de azufre de un grupo sulfhidrilo que da como resultado un enlace tioéter estable. Se puede usar un grupo de yodoacetamida. El grupo funcional reactivo con células puede reaccionar con grupos amino (-NH₂), que están presentes en los extremos N de las proteínas y en la cadena lateral de los residuos de lisina (grupo ε-amino). Se puede usar un éster activado, p. ej., un éster succinimidílico (es decir, éster de NHS). Por ejemplo, se puede usar N-hidroxisuccinimida (NHS) o su análogo soluble en agua (sulfo-NHS) en la síntesis, de modo que el análogo de compstatina reactivo con células resultante comprende un éster de NHS. Un grupo funcional reactivo con células puede reaccionar con grupos carboxilo (-COOH), que están presentes en los extremos C de las proteínas y en las cadenas laterales de diversos residuos de aminoácidos. El análogo de compstatina reactivo con células puede ser reactivo con grupos hidroxilo (-OH), que están presentes en las cadenas laterales de diversos aminoácidos y en restos de carbohidratos de proteínas glucosiladas.
- En aspectos desvelados, la parte de unión L puede comprender uno o más restos alifáticos y/o aromáticos compatibles con la formación de un compuesto estable que une los restos unidos. El término "estable", como se usa en el presente documento, se refiere preferentemente a compuestos que poseen estabilidad suficiente para permitir la fabricación y que mantienen la integridad del compuesto durante un periodo de tiempo suficiente, p. ej., para ser útil para uno o más fines descritos en el presente documento. En aspectos desvelados, L puede comprender una cadena alifática saturada o insaturada, sustituida o no sustituida, ramificada o no ramificada que tiene una longitud de entre 1 y 30, entre 1 y 20, entre 1 y 10, entre 1 y 6 o 5 o menos átomos de carbono, donde la longitud se refiere al número de átomos de C en la cadena principal (la más larga). La cadena alifática puede comprender uno o más heteroátomos (O, N, S), que se pueden seleccionar de manera independiente. Al menos 50 % de los átomos en la cadena principal de L pueden ser átomos de carbono. L puede comprender un resto alquilo saturado (CH₂)_n, en donde n está entre 1 y 30.
- En algunos aspectos desvelados, los L pueden comprender uno o más heteroátomos y tener una longitud de entre 1 y 1000, entre 1 y 800, entre 1 y 600, entre 1 y 400, entre 1 y 300, entre 1 y 200, entre 1 y 100, entre 1 y 50, entre 1 y 30 o entre 1 y 10 átomos de carbono totales en una cadena. L puede comprender un resto de oligo(etilenglicol) (-(O-CH₂-CH₂-)_n) en donde n está entre 1 y 500, entre 1 y 400, entre 1 y 300, entre 1 y 200, entre 1 y 100, entre 10 y 200, entre 200 y 300, entre 100 y 200, entre 40 y 500, entre 30 y 500, entre 20 y 500, entre 10 y 500, entre 1 y 40, entre 1 y 30, entre 1 y 20 o entre 1 y 10.
- En algunos aspectos desvelados, L puede comprender un resto insaturado tal como -CH=CH- o -CH₂-CH=CH-; un resto que comprende un sistema de anillo cíclico no aromático (p. ej., un resto de ciclohexilo), un resto aromático (p.

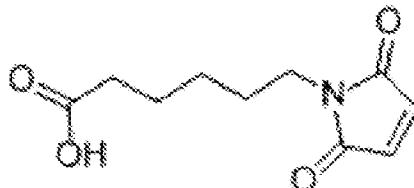
- ej., un sistema de anillo cíclico aromático tal como un resto de fenilo); un resto de éter (-C-O-C-); un resto de amida (-C(=O)-N-); un resto de éster (-CO-O-); un resto de carbonilo (-C=O-); un resto de imina (-C=N-); un resto de tioéter (-C-S-C-); un residuo de aminoácido; y/o cualquier resto que pueda formarse por la reacción de dos grupos funcionales reactivos compatibles. Uno o más restos de una parte de unión o resto reactivo con células pueden sustituirse mediante reemplazo independiente de uno o más de los átomos de hidrógeno (u otros) sobre el mismo con uno o más restos incluyendo, pero sin limitación, alifático; aromático, arilo; alquilo, aralquilo, alcanoilo, aroilo, alcoxi; tio; F; Cl; Br; I; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -o -GR^{G1} en donde G es -O-, -S-, -NR^{G2}-, -C(=O)-, -S(=O)-, -SO₂-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^{G2}-, -OC(=O)-, -NR^{G2}C(=O)-, -OC(=O)O-, -OC(=O)NR^{G2}-, -NR^{G2}C(=O)O-, -NR^{G2}C(=O)NR^{G2}-, -C(=S)-, -C(=S)S-, -SC(=S)-, -SC(=S)S-, -C(=NR^{G2})-, -C(=NR^{G2})O-, -C(=NR^{G2})NR^{G3}-, -OC(=NR^{G2})-, -NR^{G2}C(=NR^{G3})-, -NR^{G2}SO₂-, -NR^{G2}SO₂NR^{G3}- o -SO₂NR^{G2}-, en donde cada aparición de R^{G1}, R^{G2} y R^{G3} incluye de manera independiente, pero sin limitación, hidrógeno, halógeno o un resto alifático, aromático o arilo opcionalmente sustituido. Se apreciará que los sistemas de anillos cíclicos cuando están presentes como sustituyentes pueden unirse opcionalmente a través de un resto lineal.
- 5 En algunos aspectos desvelados, L puede comprender uno o más de cualquiera de los restos descritos en el párrafo anterior. L puede comprender dos o más restos diferentes unidos entre sí para formar una estructura que normalmente tiene una longitud de entre 1 y aproximadamente 60 átomos, entre 1 y aproximadamente 50 átomos, p. ej., entre 1 y 40, entre 1 y 30, entre 1 y 20, entre 1 y 10 o entre 1 y 6 átomos, donde la longitud se refiere al número de átomos en la cadena principal (la más larga). Los L pueden comprender dos o más restos diferentes unidos entre sí para formar una estructura que normalmente tiene entre 1 y aproximadamente 40, p. ej., entre 1 y 30, p. ej., entre 1 y 20, entre 1 y 10 o entre 1 y 6 átomos de carbono en la cadena principal (la más larga). En general, la estructura de dicho análogo de compstatina reactivo con células se puede representar mediante la fórmula A-(L^{P1})_jM, en donde j es normalmente entre 1 y 10 y cada L^{P1} se selecciona de manera independiente entre los restos descritos en el párrafo anterior. L puede comprender una o más cadenas que contienen carbono tales como -(CH₂)_n- y/o -(O-CH₂-CH₂)_n, que están unidos covalentemente entre sí y/o con un grupo funcional reactivo con células o análogo de compstatina, p. ej., por restos (p. ej., restos de amida, éster o éter) que resultan de la reacción de dos grupos funcionales reactivos compatibles. L puede comprender un resto oligo(etilenglicol) y/o una cadena de alquilo saturada. Los L pueden comprender -(CH₂)_m-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)_n(CH₂)_pC(=O)- o -(CH₂)_m-C(=O)-NH-(CH₂)_p(OCH₂CH₂)_nC(=O)-. Normalmente, m, n y p se seleccionan de modo que el número de carbonos en la cadena esté entre 1 y 500, p. ej., entre 2 y 400, entre 2 y 300, entre 2 y 200, entre 2 y 100, entre 2 y 50, entre 4 y 40, entre 6 y 30 o entre 8 y 20. Normalmente, m es entre 2 y 10, n es entre 1 y 500 y/o p es entre 2 y 10. Normalmente, m es entre 2 y 10, n es entre 1 y 400 y/o p es entre 2 y 10. Normalmente, m es entre 2 y 10, n es entre 1 y 300 y/o p es entre 2 y 10. Normalmente, m es entre 2 y 10, n es entre 1 y 200 y/o p es entre 2 y 10. Normalmente, m es entre 2 y 10, n es entre 1 y 100 y/o p es entre 2 y 10. Normalmente, m es entre 2 y 10, n es entre 1 y 50 y/o p es entre 2 y 10. Normalmente, m es entre 2 y 10, n es entre 1 y 25 y/o p es entre 2 y 10. Normalmente, m es entre 2 y 10, n es entre 1 y 8 y/o p es entre 2 y 10. Opcionalmente, al menos un -CH₂- se reemplaza por CH-R, en donde R puede ser cualquier sustituyente. Opcionalmente, al menos un -CH₂- se reemplaza por un resto de heteroátomo, sistema de anillo cíclico, amida, éster o éter. Normalmente, L no comprende un grupo alquilo que tiene más de 3 átomos de carbono en la cadena más larga. Normalmente, L no comprende un grupo alquilo que tiene más de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 átomos de carbono en la cadena más larga.
- 15 40 En algunos aspectos desvelados, A comprende un grupo funcional reactivo con células J y un conector L¹ que comprende una parte de unión L^{P1} y un grupo funcional reactivo que reacciona con el análogo de compstatina para generar A-M. Se puede usar un conector bifuncional L² que comprende dos grupos funcionales reactivos y una parte de unión L^{P2}. Los grupos funcionales reactivos de L pueden reaccionar con grupos funcionales reactivos adecuados de A y M para producir un análogo de compstatina reactivo con células A-L-M. El análogo de compstatina puede comprender un conector L³ que comprende una parte de unión L^{P3}. Por ejemplo, como se analiza más adelante, un conector que comprende un grupo funcional reactivo puede estar presente en el extremo N o C o un resto que comprende un grupo funcional reactivo puede estar unido con el extremo N o C a través de un conector. Por tanto, L puede contener múltiples partes de unión L^P a las que contribuyen, p. ej., A, conector(es) usado(s) para unir A y M y/o el análogo de compstatina. Se entenderá que, cuando están presentes en la estructura A-L-M, determinado(s) grupo(s) funcional(es) reactivo(s) presente(s) antes de la reacción en L¹, L², L³, etc., habrán experimentado reacción, de modo que solo una parte de dicho(s) grupo(s) funcional(es) reactivo(s) estará presente en la estructura final A-L-M y el compuesto contendrá restos formados por reacción de dichos grupos funcionales. En general, si un compuesto contiene dos o más partes de unión, las partes de unión pueden ser iguales o diferentes y pueden seleccionarse de manera independiente. Múltiples partes de unión L^P se pueden unir entre sí para formar una parte de unión L mayor y al menos algunas de dichas partes de unión pueden tener uno o más análogos de compstatina y/o grupos funcionales reactivos con células unidos con los mismos. Los análogos de compstatina pueden ser iguales o diferentes y, si son diferentes, se pueden seleccionar de manera independiente. Lo mismo es válido para las partes de unión y grupos funcionales reactivos. Al menos un enlace puede ser un enlace estable no covalente, tal como un enlace de biotina/(estrept)avidina u otro enlace no covalente de fuerza aproximadamente equivalente.
- 20 45 50 55 60 Un análogo de compstatina reactivo con células desvelado comprende un análogo de compstatina en el que cualquiera de las SEQ ID NO: 3-36, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A se extiende en uno o más aminoácidos en el extremo N, extremo C o ambos, en donde al menos uno de los aminoácidos tiene una cadena lateral que comprende un grupo funcional reactivo tal como una amina primaria o secundaria, un grupo sulfhidrilo, un grupo carboxilo (que puede estar presente como un grupo carboxilato), un grupo guanidino, un grupo fenol, un anillo de indol, un tioéter o un anillo de imidazol.
- 65

El o los aminoácidos pueden ser L-aminoácidos. Uno cualquiera o más del o los aminoácidos puede ser un D-aminoácido. Si se añaden múltiples aminoácidos, los aminoácidos pueden seleccionarse de manera independiente. El grupo funcional reactivo (p. ej., una amina primaria o secundaria) puede usarse como una diana para la adición de un resto que comprende un grupo funcional reactivo con células. Los aminoácidos que tienen una cadena lateral que comprende una amina primaria o secundaria incluyen lisina (Lys) y ácidos diaminocarboxílicos de estructura general $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ tales como ácido 2,3-diaminopropiónico (dapa), ácido 2,4-diaminobutírico (daba) y ornitina (orn), en donde $n = 1$ (dapa), 2 (daba) y 3 (orn), respectivamente. Al menos un aminoácido puede ser cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, arginina, tirosina, triptófano, metionina o histidina. La cisteína tiene una cadena lateral que comprende un grupo sulfhidrilo. El ácido aspártico y el ácido glutámico tienen una cadena lateral que comprende un grupo carboxilo (ionizable a un grupo carboxilato). La arginina tiene una cadena lateral que comprende un grupo guanidino. La tirosina tiene una cadena lateral que comprende un grupo fenol (ionizable a un grupo fenolato). El triptófano tiene una cadena lateral que comprende un anillo de indol que incluye, p. ej., triptófano. La metionina tiene una cadena lateral que comprende un grupo tioéter que incluye, p. ej., metionina. La histidina tiene una cadena lateral que comprende un anillo de imidazol. Hay disponible una amplia diversidad de aminoácidos no convencionales que tienen cadenas laterales que comprenden uno o más de dichos grupos funcionales reactivos, incluyendo aminoácidos de origen natural y aminoácidos que no se encuentran en la naturaleza. Véase, p. ej., Hughes, B. (ed.), *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry*, volúmenes 1-4, Wiley-VCH (2009-2011); Blaskovich, M., *Handbook on Syntheses of Amino Acids General Routes to Amino Acids*, Oxford University Press, 2010. Se pueden usar uno o más aminoácidos no convencionales para proporcionar una diana para la adición de un resto que comprende un grupo funcional reactivo con células. Uno cualquiera o más de los aminoácidos se pueden proteger según sea adecuado durante la síntesis del compuesto. Por ejemplo, uno o más aminoácidos pueden estar protegidos durante la(s) reacción(es) que implica(n) la cadena lateral de aminoácido diana. En donde un aminoácido que contiene sulfhidrilo se usa como diana para la adición de un resto que comprende un grupo funcional reactivo con células, el sulfhidrilo puede protegerse mientras que el compuesto se cicla mediante la formación de un enlace disulfuro intramolecular entre otros aminoácidos tales como cisteínas.

En el análisis en este párrafo, se desvela como ejemplo un aminoácido que tiene una cadena lateral que contiene un grupo amina. De manera análoga, se puede usar un aminoácido que tiene una cadena lateral que contiene un grupo funcional reactivo diferente. Un aminoácido que tiene una cadena lateral que comprende una amina primaria o secundaria puede unirse directamente con el extremo N o el extremo C de cualquiera de las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A o mediante un enlace peptídico. Un aminoácido que tiene una cadena lateral que comprende una amina primaria o secundaria puede unirse con el extremo N o C de cualquiera de las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A o mediante una parte de unión, que puede contener uno cualquiera o más de los restos de unión descritos anteriormente. Se pueden adjuntar al menos dos aminoácidos a uno o ambos extremos. Los dos o más aminoácidos adjuntos pueden unirse entre sí mediante enlaces peptídicos o al menos algunos de los aminoácidos adjuntos pueden unirse entre sí mediante una parte de enlace, que puede contener uno cualquiera o más de los restos de unión descritos en el presente documento. Por tanto, un análogo de compstatina reactivo con células puede comprender un resto análogo de compstatina M de fórmula B1-R1-M1-R2-B2, en donde M₁ representa cualquiera de las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A, bien R1 o bien R2 pueden estar ausentes, al menos uno de R1 y R2 comprende un aminoácido que tiene una cadena lateral que contiene una amina primaria o secundaria y B1 y B2 son opcionalmente restos bloqueantes presentes. R1 y/o R2 pueden unirse con M₁ mediante un enlace peptídico o un enlace no peptídico. R1 y/o R2 pueden comprender una parte de unión L^{P3}. Por ejemplo, R1 puede tener la fórmula M₂-L^{P3} y/o R2 puede tener la fórmula L^{P3}-M₂ en donde L^{P3} es una parte de unión y M₂ comprende al menos un aminoácido que tiene una cadena lateral que comprende una amina primaria o secundaria. Por ejemplo, M₂ puede ser Lys o una cadena de aminoácidos que comprende Lys. L^{P3} puede comprender o consistir en uno o más aminoácidos. Por ejemplo, L^{P3} puede tener entre 1 y aproximadamente 20 aminoácidos de longitud, p. ej., entre 4 y 20 aminoácidos de longitud. L^{P3} puede comprender o consistir en múltiples residuos de Gly, Ser y/o Ala. En ocasiones, L^{P3} no comprende un aminoácido que comprende un grupo SH reactivo, tal como Cys. En ocasiones, L^{P3} comprende un resto de oligo(etilenglicol) y/ o una cadena de alquilo saturada. En ocasiones, L^{P3} está unido al aminoácido N-terminal de M₁ a través de un enlace amida. En ocasiones, L^{P3} está unido al aminoácido C-terminal de M₁ a través de un enlace amida. El compuesto puede extenderse adicionalmente en uno o ambos extremos mediante la adición de parte(s) de unión y/o aminoácido(s) adicional(es). Los aminoácidos pueden ser iguales o diferentes y, si son diferentes, se pueden seleccionar de manera independiente. Se pueden usar dos o más aminoácidos que tengan cadenas laterales que comprenden grupos funcionales reactivos, en donde los grupos funcionales reactivos pueden ser iguales o diferentes. Los dos o más grupos funcionales reactivos pueden usarse como dianas para la adición de dos o más restos. En ocasiones, se añaden dos o más restos reactivos con células. En ocasiones, se añaden un resto reactivo con células y un resto de direccionamiento. En ocasiones, un conector y/o resto reactivo con células se unen con una cadena lateral de aminoácidos después de la incorporación del aminoácido en una cadena peptídica. En ocasiones, un conector y/o un resto reactivo con células ya está unido con la cadena lateral de aminoácidos antes del uso del aminoácido en la síntesis de un análogo de compstatina reactivo con células. Por ejemplo, se puede usar un derivado de Lys que tenga un conector unido con su cadena lateral. El conector puede comprender un grupo funcional reactivo con células o puede modificarse posteriormente para comprender un grupo funcional reactivo con células.

Determinados análogos de compstatina reactivos con células se describen con más detalle a continuación. En el siguiente análisis, un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr (SEQ ID NO: 37) (correspondiente al análogo de compstatina de SEQ ID NO: 28, en donde los asteriscos

- en la SEQ ID NO: 37 representan cisteínas unidas por un enlace disulfuro en el compuesto activo y (1Me)Trp representa 1-metil-triptófano), se usa como un resto análogo de compstatina ilustrativo; maleimida (abreviado Mal) se usa como un ejemplo de un grupo funcional reactivo con células; $(CH_2)_n$ y $(O-CH_2-CH_2)_n$ se usan como ejemplos de partes de unión; la lisina se usa como ejemplo de un aminoácido que comprende un grupo funcional reactivo (en algunos compuestos) y acetilación y amidación de los extremos N y C, respectivamente, se usan como restos bloqueantes ilustrativos opcionalmente presentes en algunos compuestos y se representan en cursiva, es decir, como Ac y NH_2 respectivamente. Se apreciará que los compuestos se pueden preparar usando diversos enfoques sintéticos y usando diversos precursores.
- 5 Un resto reactivo con células desvelado puede ser proporcionado por un compuesto reactivo con células que comprende un grupo maleimida (como un grupo funcional reactivo con células) y un ácido alcanoico ($RCOOH$), donde R es un grupo alquilo. Por ejemplo, se puede usar ácido 6-maleimidocaproico (Mal- $(CH_2)_5-COOH$), representado a continuación.

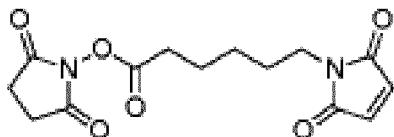


15

Compuesto I

- 20 Un resto reactivo con células desvelado puede ser proporcionado por un derivado de un ácido alcanoico en el que se ha activado el resto de ácido carboxílico, p. ej., el resto OH se ha convertido en un grupo saliente mejor. Por ejemplo, el grupo carboxilo del compuesto I puede reaccionar con EDC, seguido de reacción con NHS (que opcionalmente se puede proporcionar como sulfo-NHS soluble en agua), dando como resultado un derivado de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido 6-maleimidocaproico, es decir, éster de N-hidroxisuccinimida (NHS) de ácido 6-maleimidohexanoico (representado a continuación).

25



Compuesto II

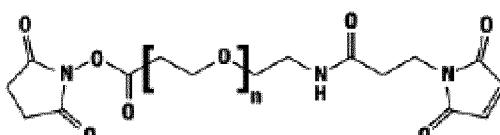
- 30 El compuesto de la SEQ ID NO: 37 puede modificarse en el extremo N y/o C para generar un análogo de compstatina reactivo con células. Por ejemplo, el compuesto II puede usarse para generar el siguiente análogo de compstatina reactivo con células mediante reacción con el grupo amino N-terminal de Ile.

- 35 Maleimida- $(CH_2)_5-C(=O)-Ile-Cys^*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys^*-Thr-NH_2$ (SEQ ID NO: 38). Se apreciará que en la SEQ ID NO: 38 el resto $-C(=O)$ está unido al aminoácido C-terminal inmediato (Ile), a través de un enlace C-N, en donde el N es parte del aminoácido y no se muestra.

- 40 En otros aspectos desvelados, un grupo maleimida está unido a Thr en el extremo C, lo que da como resultado el siguiente análogo de compstatina reactivo con células:

Ac-Ile-Cys^{*}-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys^{*}-Thr-(C=O)- $(CH_2)_5$ -maleimida (SEQ ID NO: 39).

- 45 Se puede sintetizar un análogo de compstatina reactivo con células usando un conector bifuncional (p. ej., un conector heterobifuncional). Se muestran a continuación un conector heterobifuncional ilustrativo que comprende restos de $(CH_2-CH_2-O)_n$ y $(CH_2)_m$ (donde m=2):



Compuesto III

50

El compuesto **III** comprende un grupo maleimida como grupo funcional reactivo con células y un resto de éster de NHS que reacciona fácilmente con un grupo amino (p. ej., un grupo amino N-terminal o un grupo amino de una cadena lateral de aminoácidos).

- 5 Se puede usar una versión del compuesto **III** en la que $n = 2$ para generar el siguiente análogo de compstatina reactivo con células usando el análogo de compstatina de la SEQ ID NO: 37:

Maleimida-(CH₂)₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂C(=O)-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 40)

- 10 Se apreciará que en el compuesto de la SEQ ID NO: 40 un resto -C(=O) está unido con el aminoácido N-terminal (residuo Ile a través de un enlace C-N, en donde el N es parte del aminoácido y no se muestra. Un conector puede tener la fórmula del compuesto **III** en donde $n \geq 1$. Se proporcionan en el presente documento valores ilustrativos para n en un resto (CH₂-CH₂-O)_n.

- 15 La cadena de alquilo que une el resto de maleimida con el resto de la molécula puede contener más o menos unidades de metileno, el resto de oligo(etilenglicol) puede contener más o menos unidades de etilenglicol y/o puede haber más o menos unidades de metileno que flanquean uno o ambos lados del resto de oligo(etilenglicol), en comparación con el compuesto de la SEQ ID NO: 39 o la SEQ ID NO: 40. A continuación se presentan algunos análogos de compstatina reactivos con células desvelados que ilustran algunas de dichas variaciones (SEQ ID NO: 41-46):

Maleimida-(CH₂)₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂C(=O)-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 41)

Maleimida-(CH₂)₃-C(=O)-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂C(=O)-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 42)

Maleimida-(CH₂)₅-C(=O)-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂C(=O)-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 43)

Maleimida-(CH₂)₄-C(=O)-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂C(=O)-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 44)

- 30 Maleimida-(CH₂)₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂C(=O)-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 45)

Maleimida-(CH₂)₅-C(=O)-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂C(=O)-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 46)

- 35 La SEQ ID NO: 37 puede extenderse para comprender un residuo de Lys en el extremo N o C del péptido, p. ej., como se ilustra a continuación para un enlace C-terminal:

Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 47).

Se puede unir un residuo de Lys con el extremo N o C de la SEQ ID NO: 37 a través de un conector peptídico, p. ej., como se ilustra a continuación para un enlace C-terminal:

Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-(Gly)₅-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 48).

- 40 Se puede añadir un conector que comprende una amina primaria o secundaria al extremo N o C de un análogo de compstatina. El conector puede comprender una cadena de alquilo y/o un resto de oligo(etilenglicol), tal como NH₂(CH₂CH₂O)_nCH₂C(=O)OH (p. ej., ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEAc) o ácido 11-amino-3,6,9-trioxaundecanoico) o un éster de NHS del mismo (p. ej., un éster de NHS de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico o ácido 11-amino-3,6,9-trioxaundecanoico).

Un compuesto desvelado es el siguiente (en donde la parte aportada por el conector se muestra en negrita):

- 50 NH₂(CH₂)₅C(=O)-Ile-Cys-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 49)
NH₂(CH₂CH₂O)₂CH₂C(=O)-Ile-Cys-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 50)

- 55 En algunas realizaciones, un residuo de Lys se une al extremo C-terminal de la SEQ ID NO: 37 mediante un conector que comprende ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEAc), lo que da como resultado el siguiente compuesto (en donde la parte aportada por 8-AEEAc se muestra en negrita):

Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂C(=O)-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 51)

- 60 Se apreciará que en las SEQ ID NO: 49 y 50, un resto -C(=O) está unido con el residuo de Ile adyacente a través de un enlace C-N, en donde el N es parte del aminoácido y no se muestra. De manera similar, en la SEQ ID NO: 51, un resto -C(=O) está unido con el residuo de Lys adyacente a través de un enlace C-N, en donde el N es parte del aminoácido y no se muestra. También se apreciará que en la SEQ ID NO: 51 el resto de NH está unido con el aminoácido N-terminal inmediato (Thr), a través de un enlace C-N, en donde el C es el carbono carbonílico del aminoácido y no se muestra.

- 65 Los compuestos de las SEQ ID NO: 47-51 pueden modificarse fácilmente en el grupo de amina primaria para producir

un análogo de compstatina reactivo con células. Por ejemplo, los compuestos de las SEQ ID NO: 47-51 (u otros compuestos que comprenden una amina primaria o secundaria y un resto análogo de compstatina) pueden hacerse reaccionar con éster N-succinimidílico del ácido 6-maleimidocaproico para producir los siguientes análogos de compstatina reactivos con células:

- 5 Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-(Gly)₅-Lys--(C(=O)-(CH₂)₅-Mal)-NH₂ (SEQ ID NO: 53).
 Mal-(CH₂)₅-(C(=O)-NH(CH₂)₅C(=O)-Ile-Cys-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 54)
- 10 Mal-(CH₂)₅-(C(=O)NH(CH₂CH₂O)₂CH₂C(=O)-Ile-Cys-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys-Thr-NH₂ (SEQ ID NO: 55)
 Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr -NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂-C(=O)-Lys-(C(=O)-(CH₂)₅-Mal)-NH₂ (SEQ ID NO: 56)

15 Otro análogo de compstatina reactivo con células se representa como: Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-Lys-C(=O)-CH₂(OCH₂CH₂)₂NH(C(=O)-(CH₂)₅-Mal)-NH₂ (SEQ ID NO: 57).

Además, en el presente documento se desvelan variantes de las SEQ ID NO: 38-57 en las que -Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr- se reemplaza por una secuencia de aminoácidos que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquier otro análogo de compstatina, p. ej., de cualquiera de las SEQ ID NO 3-27 o 29-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A, con la condición de que el(s) resto(s) bloqueante(s) presente(s) en los extremos N y/o C de un análogo de compstatina puede(n) estar ausente(s), reemplazado por un conector (que puede comprender un resto bloqueante) o unido con un aminoácido N o C-terminal diferente presente en la(s) variante(s) correspondiente(s).

25 Otros reticuladores bifuncionales desvelados que comprenden una maleimida como un resto reactivo con células y un éster de NHS como un resto reactivo con amina incluyen, p. ej., 4-(p-maleimidofenil)butirato de succinimidilo (SMPB); 4-(N-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC); éster de N-γ-maleimidobutiril-oxisuccinimidilo (GMBS). La adición de un sulfonato al anillo de NHS da como resultado análogos solubles en agua, tales como (4-yodoacetil)-aminobenzoato de sulfo-succinimidilo (sulfo-SIAB), 4-(N-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato de sulfo-succinimidilo (sulfo-SMCC), 4-(p-maleimidofenil)butirato de sulfo-succinimidilo (sulfo-SMPB), éster de sulfo-N-γ-maleimidobutiril-oxisuccinimidilo (sulfo-GMBS), etc., que puede evitar la necesidad de un disolvente orgánico. Se puede usar una versión de cadena larga de cualquiera de los anteriores, que comprende una rama espaciadora entre el resto de éster de NHS y el resto de la molécula. El espaciador puede comprender, p. ej., una cadena de alquilo. Un ejemplo es succinimidil-4-[N-maleimidometil]ciclohexano-1-carboxi-[6-amidocaproato].

35 35 Un conector bifuncional desvelado comprende un éster de NHS (como un resto reactivo con amina) y un grupo de yodoacetilo (reactivo con grupos sulfhidrilo). Dichos conectores incluyen, p. ej., (4-yodoacetil)-aminobenzoato de N-succinimidilo (SIAB); 6-[(yodoacetil)-amino]hexanoato de succinimidilo (SIAX); 6-[6-((yodoacetil)amino)-hexanoil]amino]hexanoato de succinimidilo (SIAXX); 4-((yodoacetil)amino)metil)-ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo (SIAC); 6-(((4-(yodoacetil)amino)metil-ciclohexano-1-carbonil)amino)hexanoato de succinimidilo (SIACX);

40 45 Otro conector bifuncional divulgado comprende un éster de NHS (como un resto reactivo con amina) y un grupo de piridil disulfuro (como un resto reactivo con células con grupos sulfhidrilo). Los ejemplos incluyen 3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo (SPDP); succinimidiloxicarbonil-α-metil-α-(2-piridilditio)tolueno (SMPT) y versiones que comprenden un sulfonato en el anillo de NHS y/o un espaciador que comprende una cadena de alquilo entre el resto de éster de NHS y el resto de la molécula (p. ej., 6-(3-[2-piridilditio]-propionamido)hexanoato de succinimidilo) (LC-SPDP). Podrían usarse variaciones de dichos conectores que incluyen restos adicionales o diferentes. Por ejemplo, se podría usar una cadena de alquilo más larga o más corta en un espaciador o un resto de oligo(etilenglicol) en lugar de una cadena de alquilo.

55 55 En general, se puede sintetizar un análogo de compstatina reactivo con células usando diversos enfoques. Los compuestos reactivos con células que comprenden un grupo funcional reactivo con células y un conector se puede obtener con frecuencia como componentes básicos preformados. Por ejemplo, el ácido 6-maleimidocaproico y el éster de N-hidroxisuccinimidilo del ácido 6-maleimidocaproico se pueden comprar de diversos proveedores. Como alternativa, dichos compuestos pueden sintetizarse usando métodos conocidos en la técnica. Véase, p. ej., Keller O, Rüdinger J. Helv Chim Acta. 58 (2): 531-41, 1975 y Hashida S, et al., J Appl Biochem., 6 (1-2): 56-63, 1984. Véase también, Hermanson, G., mencionado anteriormente, y referencias en el mismo, para análisis de métodos y reactivos de uso para sintetizar conjugados. En general, la divulgación abarca cualquier método de producción de un compuesto que comprenda un resto análogo de compstatina y un grupo funcional reactivo con células y los compuestos resultantes.

60 65 Un aminoácido que tiene un conector unido con una cadena lateral se puede usar en la síntesis de un péptido lineal. El péptido lineal puede sintetizarse usando métodos convencionales para la síntesis de péptidos conocidos en la técnica, p. ej., síntesis convencional de péptidos de fase sólida. El péptido lineal se cicla después (p. ej., por oxidación de los residuos de Cys para formar un disulfuro intramolecular). El compuesto cíclico puede hacerse reaccionar

después con un conector que comprende un grupo funcional reactivo con células. Un resto que comprende un grupo funcional reactivo con células puede hacerse reaccionar con un compuesto lineal antes de la ciclación del mismo. En general, los grupos funcionales reactivos pueden protegerse adecuadamente para evitar reacciones indeseadas entre sí durante la síntesis de un análogo de compstatina reactivo con células. El grupo funcional reactivo con células, 5 cualquiera de las cadenas laterales de aminoácidos y/o uno o ambos extremos del péptido pueden protegerse durante la reacción y desprotegerse posteriormente. Por ejemplo, los grupos SH de residuos de Cys y/o restos reactivos con SH tales como maleimidas pueden protegerse hasta después de la ciclación para evitar la reacción entre ellos. Las 10 condiciones de reacción se seleccionan en función de, al menos en parte, los requisitos del (de los) grupo(s) funcional(es) reactivo(s) particular(es) para lograr rendimiento razonable en un periodo de tiempo razonable. La temperatura, el pH y la concentración de los reactivos se pueden ajustar para lograr el grado o la velocidad de reacción deseados. Véase, p. ej., Hermanson, mencionado anteriormente. El producto deseado se puede purificar, p. ej., para eliminar el compuesto que no ha reaccionado que comprende el grupo funcional reactivo con células, análogo de compstatina que no ha reaccionado, conector(es), productos distintos del análogo de compstatina reactivo con células deseado que pueden haberse generado en la reacción, otras sustancias presentes en la mezcla de reacción, etc.

15 En los análogos de compstatina proporcionados para su uso de acuerdo con la invención, se usa un conector descrito anteriormente, que comprende además una cadena de polietilenglicol (PEG) que tiene un peso molecular promedio de 40 kD que, p. ej., estabiliza el compuesto, aumenta su vida útil en el cuerpo, aumenta su solubilidad, disminuye su inmunogenicidad y/o aumenta su resistencia a la degradación. Sin limitar la invención de ninguna manera, dicho resto 20 puede denominarse en el presente documento "resto reductor de la eliminación" (CRM) y un análogo de compstatina que comprende dicho resto puede denominarse "análogo de compstatina de acción prolongada" (ACAP). Un análogo de compstatina de acción prolongada puede tener una semivida plasmática promedio de al menos 1 día, p. ej., 1 - 3 días, 3 - 7 días, 7 - 14 días o 14 - 28 días, cuando se administra IV a una dosis de 10 mg/kg a seres humanos o a primates no humanos, o una dosis de aproximadamente 1-3 mg/kg, 3-5 mg/kg, 5-10 mg/kg, p. ej., 7 mg/kg. Un análogo de compstatina de acción prolongada puede tener una semivida plasmática promedio de al menos 1 día, p. ej., 1 - 3 días, 25 3 - 7 días, 7 - 14 días o 14 - 28 días, cuando se administra por vía subcutánea a, p. ej., una dosis de aproximadamente 1-3 mg/kg, 3-5 mg/kg, 5-10 mg/kg, p. ej., 7 mg/kg a seres humanos o primates no humanos. Un análogo de compstatina de acción prolongada puede tener una semivida promedio en plasma (p. ej., una semivida terminal) de entre aproximadamente 4-10, 5-9, 5-8, 6-9, 7-9 u 8-9 días, p. ej., aproximadamente 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 o 10 días, cuando se administra por vía intravenosa a, p. ej., una dosis de aproximadamente 1-3 mg/kg, 3-5 mg/kg, 30 5- 10 mg/kg, p. ej., 7 mg/kg a seres humanos o primates no humanos. Un análogo de compstatina de acción prolongada puede caracterizarse por que se absorbe ampliamente desde el sitio de administración durante el periodo de tiempo después de la inyección subcutánea y proporciona, p. ej., en el momento de administración o aproximadamente después de 1-2 días tras la administración, un nivel en sangre similar al que se alcanzaría si se administrara la misma cantidad de compuesto por vía intravenosa. El nivel en sangre en el momento de administración o después de 40 aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más días tras la administración de una dosis subcutánea puede estar dentro de aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 % o 25 % del nivel en sangre que se alcanzaría si se administrara la misma cantidad de compuesto por vía intravenosa. Véase, p. ej., figura 11, que muestra la farmacocinética de una dosis administrada por vía intravenosa y por vía subcutánea de un compuesto ilustrativo descrito en el presente documento después de aproximadamente 1-2 días después de la administración. La semivida promedio en plasma de un análogo de compstatina de acción prolongada después de la administración IV a una dosis de 10 mg/kg a seres humanos o primates no humanos puede aumentar en al menos un factor de 2, p. ej., en un factor de 2-5, 5-10, 10-50 o 50-100 veces o 100-150 veces o 150-200 veces en comparación con la de un análogo de compstatina correspondiente que tiene la misma secuencia de aminoácidos (y, si procede, uno o más restos bloqueantes) pero que no comprende el CRM. Dicho aumento de la semivida después de la administración a través de otras vías, tales como la administración subcutánea y/o usando otras dosis, p. ej., otras dosis descritas en el presente documento, p. ej., 20 mg/kg. Un análogo de compstatina de cualquiera de las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A puede extenderse en uno o más aminoácidos en el extremo N, extremo C o ambos, en donde al menos uno de los aminoácidos tiene una cadena lateral que comprende un grupo funcional reactivo tal como una amina primaria o secundaria, un grupo sulfhidrilo, un grupo carboxilo (que puede estar presente como un grupo carboxilato), un grupo guanidino, un grupo fenol, un anillo de indol, un tioéter o un anillo de imidazol, que facilitan la conjugación con un grupo funcional reactivo para unir un CRM con el análogo de compstatina. Se entenderá que un análogo de compstatina correspondiente que no comprende el CRM también puede carecer de uno o más de dichos aminoácidos que están presentes en el análogo de compstatina de acción prolongada al que corresponde. Por tanto, se entenderá que un análogo de compstatina correspondiente que comprenda cualquiera de las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A y que carezca de 50 un CRM "tiene la misma secuencia de aminoácidos" que las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A, respectivamente. Por ejemplo, se entenderá que un análogo de compstatina correspondiente que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, 32, 33, 34 o 36 y que carece de un CRM "tiene la misma secuencia de aminoácidos" que las SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, 32, 33, 34 o 36, respectivamente. Una semivida en plasma puede ser una semivida terminal después de la administración de una sola dosis IV. Una semivida en plasma puede ser una semivida terminal después de haberse alcanzado el estado estacionario después de la administración de múltiples dosis IV. Un análogo de compstatina de acción prolongada puede lograr una Cmáx en plasma al menos 55

- 5 veces mayor que la de un análogo de compstatina correspondiente que no comprende el CRM, p. ej., entre 5 y 50 veces mayor, después de la administración de una sola dosis IV a un primate o después de la administración de múltiples dosis IV. Un análogo de compstatina de acción prolongada puede lograr una Cmáx en plasma entre 10 y 20 veces mayor que la de un análogo de compstatina correspondiente que no comprende el CRM después de la administración de una sola dosis IV a un primate o después de la administración de múltiples dosis IV. En algunas realizaciones, un primate es humano. En algunas realizaciones, un primate es un primate no humano, p. ej., un mono, tal como un mono cinomolgo o un mono Rhesus. El aclaramiento renal de un análogo de compstatina de acción prolongada durante las primeras 24 horas después de la administración IV a una dosis de 10 mg/kg o 20 mg/kg a seres humanos o a primates no humanos puede reducirse en al menos un factor de 2, p. ej., en un factor de 2-5, 5-10, 10-50 o 50-100 veces o 100-150 veces o 150-200 veces en comparación con la eliminación renal de un análogo de compstatina correspondiente. Dicha reducción de la eliminación renal después de la administración a través de otras vías, tales como la administración subcutánea y/o usando otras dosis, p. ej., otras dosis descritas en el presente documento, p. ej., 20 mg/kg. La concentración de análogo de compstatina se puede medir en muestras de sangre y/u orina usando, p. ej., UV, HPLC, espectrometría de masas (MS) o anticuerpo para el CRM, o combinaciones de dichos métodos, tales como LC/MS o LC/MS/MS. Los parámetros farmacocinéticos tales como la semivida y el aclaramiento se pueden determinar usando métodos conocidos por los expertos habituales en la materia. Se puede realizar análisis farmacocinético, p. ej., con el software WinNonlin v 5.2 (Pharsight Corporation, San Luis, MO) u otros programas adecuados.
- 20 Un CRM puede ser estable en condiciones fisiológicas durante al menos 24 horas o más. Un CRM puede ser estable en plasma o suero de mamíferos, p. ej., primates, p. ej., seres humanos o primates no humanos (p. ej., mono), durante al menos 24 horas. Al menos 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más, de las moléculas de CRM pueden permanecer intactas tras la incubación en condiciones fisiológicas durante 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 120 horas, 144 horas, 168 horas o más. Al menos 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más, de las moléculas de CRM pueden permanecer intactas tras su incubación en sangre, plasma o suero a 37 grados C durante 48 horas, 72 horas, 96 horas, 120 horas, 144 horas, 168 horas o más. La incubación se puede realizar usando un CRM a una concentración de entre 1 microgramo/ml y aproximadamente 100 mg/ml. Las muestras pueden analizarse en diversos puntos temporales. El tamaño o la integridad se pueden evaluar usando, p. ej., cromatografía (p. ej., HPLC), espectrometría de masas, transferencia de Western o cualquier otro método adecuado. Dichas características de estabilidad pueden conferirse a un resto conjugado con el CRM. Un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un CRM puede tener cualquiera de las características de estabilidad mencionadas anteriormente. En algunos aspectos, intacto con respecto a un análogo de compstatina de acción prolongada significa que el resto de análogo de compstatina permanece conjugado con el CRM y el tamaño del CRM permanece aproximadamente igual al inicio de la incubación o la administración.
- 35 Un análogo de compstatina de acción prolongada puede tener una actividad molar de al menos aproximadamente 10 %, 20 %, 30 %, p. ej., entre 30 % y 40 %, entre 30 % y 50 %, entre 30 % y 60 %, entre 30 % y 70 %, entre 30 % y 80 %, entre 30 % y 90 %, o más, de la actividad de un análogo de compstatina correspondiente que tiene la misma secuencia de aminoácidos (y, si procede, uno o más restos bloqueantes) pero que no comprende CRM. En donde un análogo de compstatina de acción prolongada comprende múltiples restos análogos de compstatina, la actividad molar del análogo de compstatina de acción prolongada puede ser de al menos aproximadamente 10 %, 20 % o 30 %, p. ej., entre 30 % y 40 %, entre 30 % y 50 %, entre 30 % y 60 %, entre 30 % y 70 %, entre 30 % y 80 %, entre 30 % y 90 %, o más, de la suma de las actividades de dichos restos análogos de compstatina.
- 45 En los análogos de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, el polietilenglicol (PEG) comprende un resto $(CH_2CH_2O)_n$ y tiene un peso molecular de 40 kD. "Peso molecular promedio" se refiere al peso molecular promedio numérico. La polidispersidad D de un resto $(CH_2CH_2O)_n$ puede estar entre 1,0005 y 1,50, por ejemplo, entre 1,005 y 1,10, 1,15, 1,20, 1,25, 1,30, 1,40 o 1,50, o cualquier valor entre 1,0005 y 1,50.
- 50 En algunas realizaciones, el resto de $(CH_2CH_2O)_n$ es monodisperso y la polidispersidad de un resto $(CH_2CH_2O)_n$ es 1,0. Dichos restos de $(CH_2CH_2O)_n$ monodispersos son conocidos en la técnica y están disponibles en el mercado de Quanta BioDesign (Powell, OH).
- 55 En los análogos de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, se une un resto análogo de compstatina como se define en las reivindicaciones en cada extremo de un PEG que tiene un peso molecular de 40 kD. Puede usarse un PEG bifuncional que tenga un grupo funcional reactivo en cada extremo de la cadena, p. ej., como se describe anteriormente. En algunas realizaciones, los grupos funcionales reactivos son idénticos mientras que en algunas realizaciones están presentes en cada extremo diferentes grupos funcionales reactivos.
- 60 Pueden proporcionarse múltiples restos $(CH_2CH_2O)_n$ como una estructura ramificada. Las ramificaciones pueden estar unidas a un armazón polimérico lineal (p. ej., como una estructura en forma de peine) o puede emanar de uno o más grupos de núcleo central, p. ej., como una estructura en estrella. Una molécula ramificada puede tener de 3 a 10 cadenas de $(CH_2CH_2O)_n$. Una molécula ramificada puede tener de 4 a 8 cadenas de $(CH_2CH_2O)_n$. Una molécula ramificada puede tener 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 o 3 cadenas de $(CH_2CH_2O)_n$. Una molécula en forma de estrella puede tener 10-100, 10-50, 10-30 o 10-20 cadenas de $(CH_2CH_2O)_n$ que emanan de un grupo de núcleo central. Al menos algunas de las longitudes de ramificación pueden ser diferentes. En general y los compuestos representados en el presente

documento, se extrae un resto de polietilenglicol con el átomo de oxígeno en el lado derecho de la unidad repetida o el lado izquierdo de la unidad repetida. En los casos en los que solo se dibuja una orientación, la presente invención abarca ambas orientaciones (es decir, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ y $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$) de restos de polietilenglicol para un compuesto o género dado o en los casos en los que un compuesto o género contiene múltiples restos de polietilenglicol, todas las combinaciones de orientaciones están abarcadas por la presente divulgación.

A continuación, se ilustran las fórmulas de algunos PEG monofuncionales desvelados que comprenden un grupo funcional reactivo. Para fines ilustrativos, se representan fórmulas en las que el (los) grupo(s) funcional(es) reactivo(s) comprende(n) un éster de NHS, pero podrían usarse otros grupos funcionales reactivos, p. ej., como se ha descrito anteriormente. Los $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ se representan terminando en el extremo izquierdo con un grupo metoxi (OCH_3) pero se entenderá que las cadenas representadas a continuación y en cualquier otro lugar del presente documento pueden terminar con un resto OR diferente (p. ej., un grupo alifático, un grupo alquilo, un grupo alquilo inferior o cualquier otro grupo terminal PEG adecuado) o un grupo OH. También se apreciará que restos distintos de los representados pueden conectar los restos de $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ con el grupo NHS.

Un PEG monofuncional desvelado es de fórmula A:

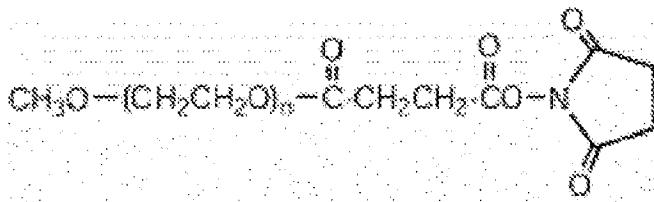


Fórmula A

en donde "grupo funcional reactivo" y n son como se ha definido anteriormente y se describe en las clases y subclases en el presente documento;

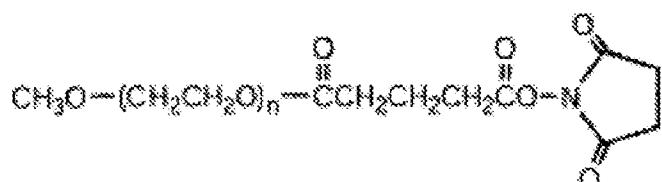
R¹ es hidrógeno, alifático o cualquier grupo final adecuado; y T es un enlace covalente o una cadena de hidrocarburo C₁₋₁₂ lineal o ramificada en donde una o más unidades de carbono de T se reemplazan opcionalmente y de manera independiente por -O-, -S-, -N(R^X)-, -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -N(R^X)C(O)-, -C(O)N(R^X)-, -S(O)-, -S(O)₂-, -N(R^X)SO₂- o -SO₂N(R^X)-; y cada R^X es de manera independiente hidrógeno o C₁₋₆ alifático.

Los PEG monofuncionales de fórmula A desvelados ilustrativos incluyen:

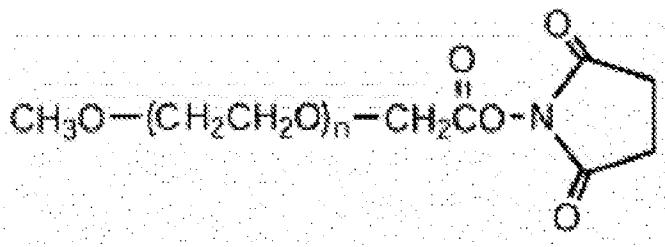


Fórmula I

En la fórmula I, el resto que comprende el grupo funcional reactivo tiene la estructura general -CO-(CH₂)_m-COO-NHS, donde m=2. Un PEG monofuncional puede tener la estructura de la fórmula I, donde m está entre 1 y 10, p. ej., entre 1 y 5. Por ejemplo, m puede ser 3, como se muestra a continuación:

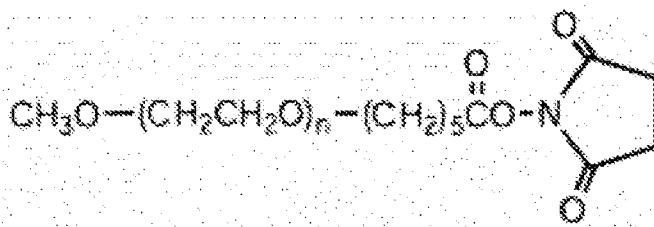


Fórmula Ia.



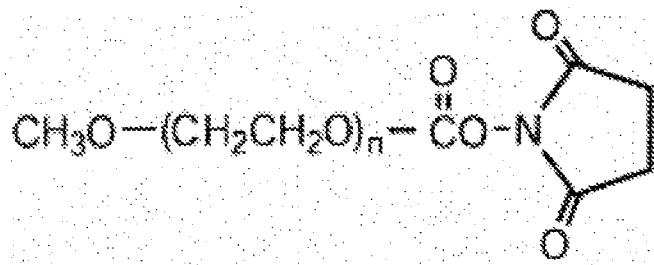
Fórmula II

- 5 En la fórmula II, el resto que comprende el grupo funcional reactivo tiene la estructura general -(CH₂)_m-COO-NHS, donde m=1. Un PEG monofuncional puede tener la estructura de la fórmula II, donde m está entre 1 y 10 (p. ej., en donde m es 5 como se muestra en la fórmula III a continuación) o en donde m es 0 (como se muestra a continuación en la fórmula IIIa).



10

Fórmula III

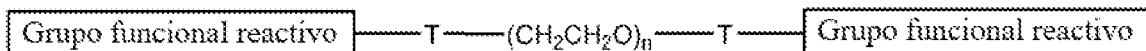


15

Fórmula IIIa

- Un PEG lineal bifuncional comprende un resto que comprende un grupo funcional reactivo en cada uno de sus extremos. Los grupos funcionales reactivos pueden ser iguales (homobifuncionales) o diferentes (heterobifuncionales).
- 20 La estructura de un PEG bifuncional puede ser simétrica, en donde se usa el mismo resto para conectar el grupo funcional reactivo con átomos de oxígeno en cada extremo de la cadena -(CH₂CH₂O)_n. Se pueden usar diferentes restos para conectar los dos grupos funcionales reactivos con la parte de PEG de la molécula. Las estructuras de los PEG bifuncionales ilustrativos se representan a continuación. Para fines ilustrativos, se representan fórmulas en las que el (los) grupo(s) funcional(es) reactivo(s) comprende(n) un éster de NHS, pero podrían usarse otros grupos funcionales reactivos.
- 25

Un PEG lineal bifuncional puede ser de fórmula B:

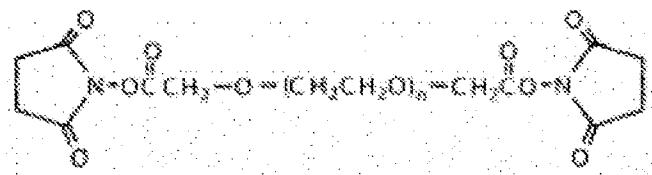


30

Fórmula B

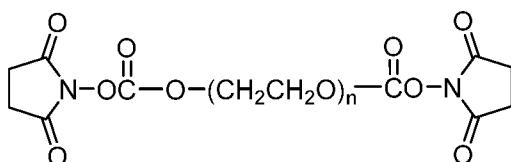
- en donde cada T y "grupo funcional reactivo" es de manera independiente como se ha definido anteriormente y se describe en las clases y subclases del presente documento, y n es como se ha definido anteriormente y se describe en las clases y subclases del presente documento.
- 35

Los PEG bifuncionales ilustrativos de fórmula B incluyen:



Fórmula IV

- 5 En la fórmula IV, el resto que comprende el grupo funcional reactivo tiene la estructura general $-(CH_2)_m-COO-NHS$, donde $m=1$. Un PEG bifuncional puede tener la estructura de la fórmula IV, donde m está entre 1 y 10, p. ej., entre 1 y 5. Cuando m es 0, el resto que comprende el grupo funcional reactivo tiene la estructura general $-COO-NHS$. Por ejemplo, un PEG bifuncional puede tener la estructura de fórmula IVa como se muestra a continuación:

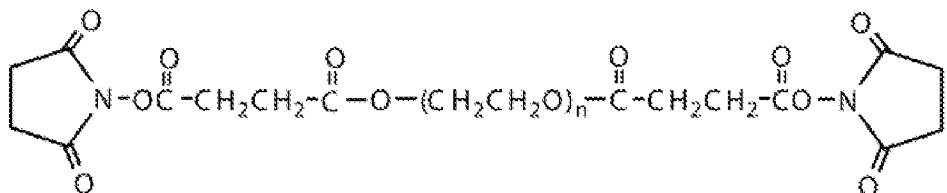


10

Fórmula IVa

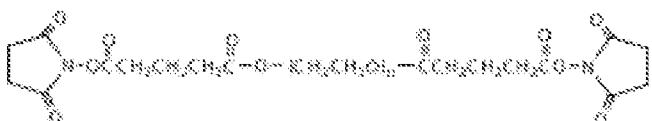
En la Fórmula (V) se muestra otro PEG bifuncional desvelado.

15



Fórmula V

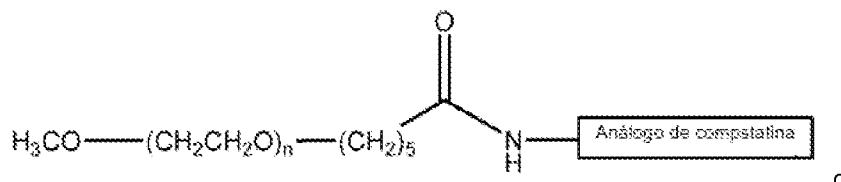
- 20 En la fórmula V, el resto que comprende el grupo funcional reactivo tiene la estructura general $-CO-(CH_2)_m-COO-NHS$, donde $m=2$. Dichos PEG bifuncionales tienen la estructura de la fórmula V, donde m está entre 1 y 10, p. ej., entre 1 y 5. Por ejemplo, m puede ser 2, como se muestra a continuación:



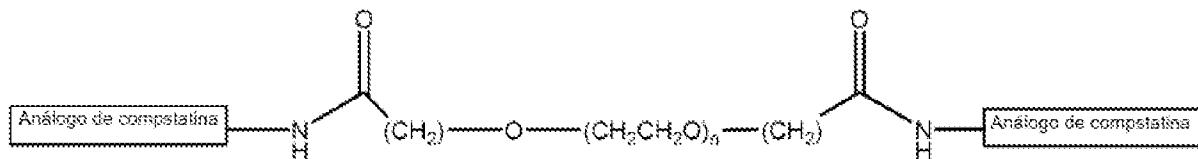
25

Fórmula Va

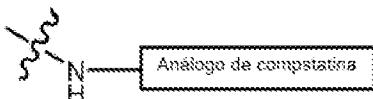
- 30 Los análogos de compstatina proporcionados para su uso de acuerdo con la presente invención comprende así un análogo de compstatina conjugado con un polímero. Puede hacerse reaccionar un grupo amina en el análogo de compstatina con un compuesto que contiene PEG que tiene un "grupo funcional reactivo" como se describe en el presente documento, para generar dichos conjugados. A modo de ejemplo, las fórmulas III y IV, respectivamente, puede formar conjugados análogos de compstatina que tienen la estructura:



35



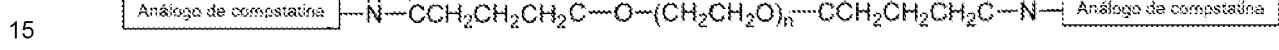
en donde,



5

representa el punto de unión de un grupo amina en un análogo de compstatina, tal como el grupo de cadena lateral de lisina.

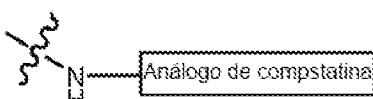
- 10 Se apreciará que se pueden formar conjugados correspondientes con cualquiera de los compuestos y géneros que contienen PEG representados en el presente documento, dependiendo de la elección del grupo funcional reactivo y/o grupo funcional de compstatina. Por ejemplo, las fórmulas IVa y Va, respectivamente, pueden formar conjugados análogos de compstatina que tienen las siguientes estructuras



15

En los análogos de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, el componente de PEG tiene un peso molecular promedio de aproximadamente 40 kD.

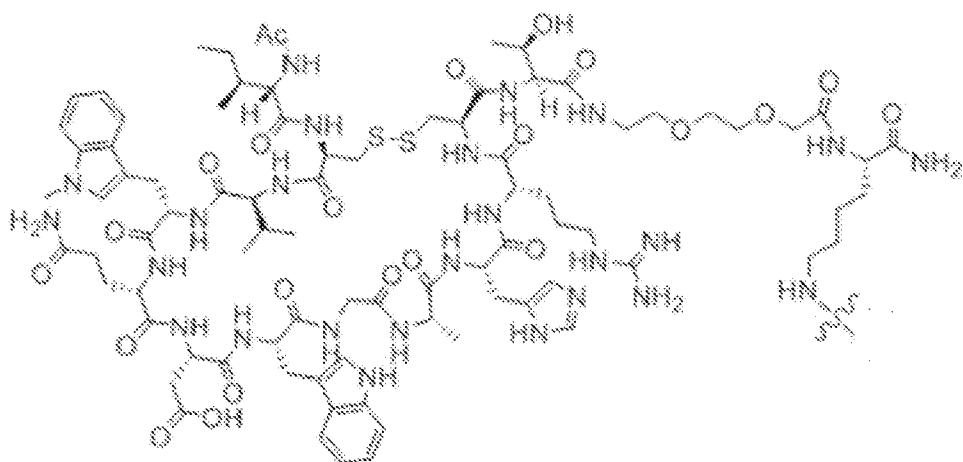
- 20 El término "bifuncional" o "bifuncionalizado" se usa en ocasiones en el presente documento para hacer referencia a un compuesto que comprende dos restos análogos de compstatina unidos con un CRM. Dichos compuestos pueden designarse con las letras "BF". En los análogos de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, el compuesto bifuncionalizado es simétrico los enlaces entre el CRM y cada uno de los restos análogos de compstatina son iguales.
- 25 En los análogos de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, cada resto de análogo de compstatina está unido al polímero del CRM mediante un carbamato. En algunas realizaciones, cada enlace entre un CRM y un análogo de compstatina de un compuesto bifuncionalizado comprende un carbamato y no comprende un éster. Cada análogo de compstatina de un compuesto bifuncionalizado puede unirse directamente a un CRM a través de un carbamato. Cada análogo de compstatina de un compuesto bifuncionalizado puede estar unido directamente con un CRM a través de un carbamato y el compuesto bifuncionalizado puede tener la estructura:
- 30



35

puede representar el punto de unión de un grupo de cadena lateral de lisina en un análogo de compstatina que tiene la estructura:

40

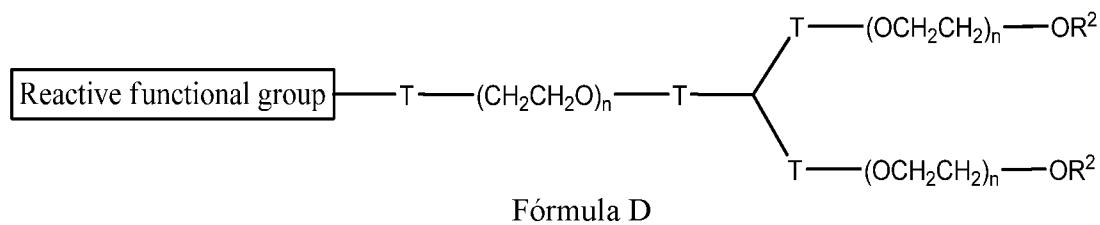
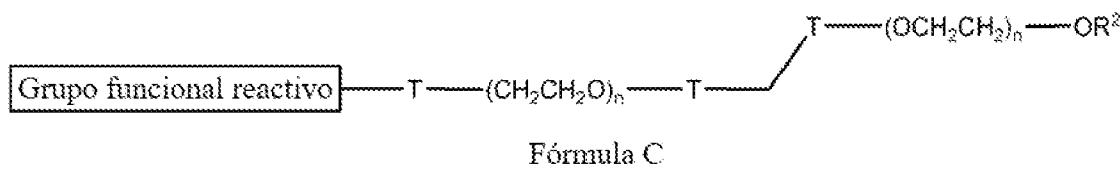


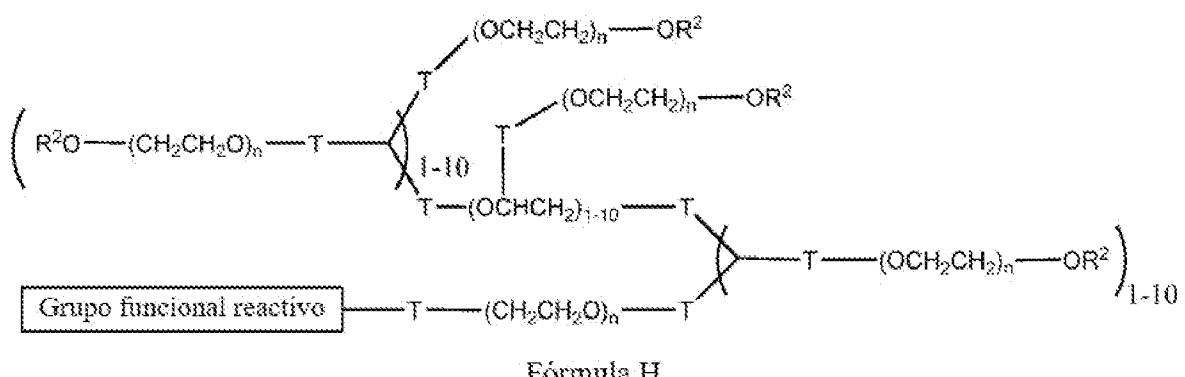
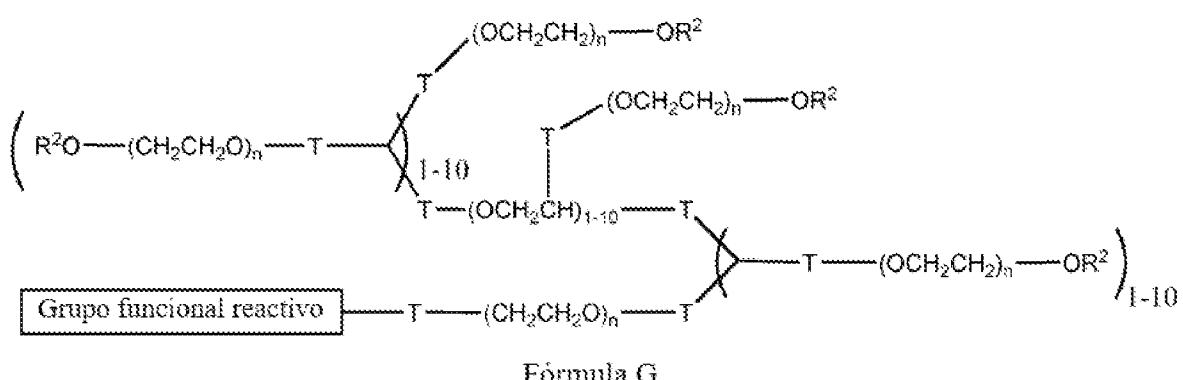
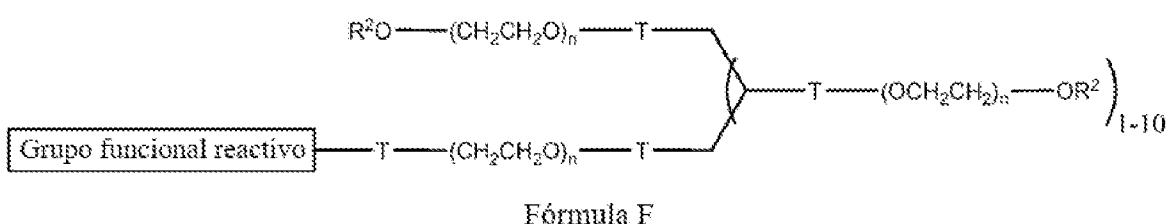
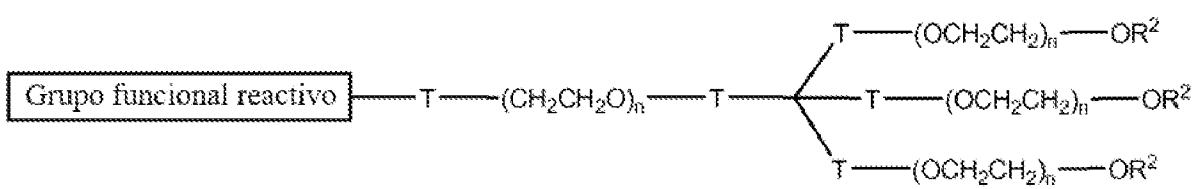
en donde el símbolo " ~~~ " indica el punto de unión de un resto químico con el resto de una molécula o fórmula química.

5

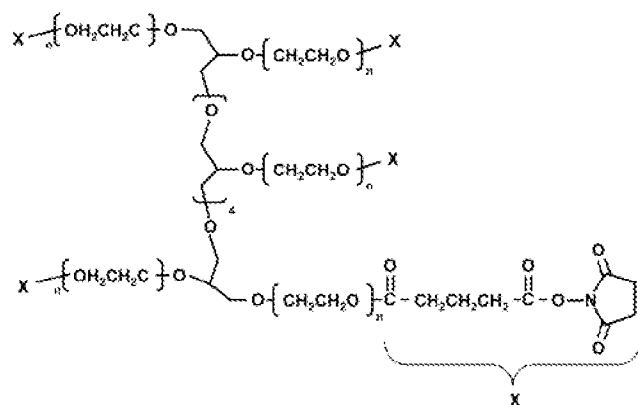
Además, se desvela un PEG ramificado, en peine o en forma de estrella que comprende un resto que comprende un grupo funcional reactivo en el extremo de cada una de múltiples cadenas $-(CH_2CH_2O)_n$. Los grupos funcionales reactivos pueden ser iguales o puede haber al menos dos grupos diferentes. Un PEG ramificado, en peine o en forma de estrella puede ser de las siguientes fórmulas:

10

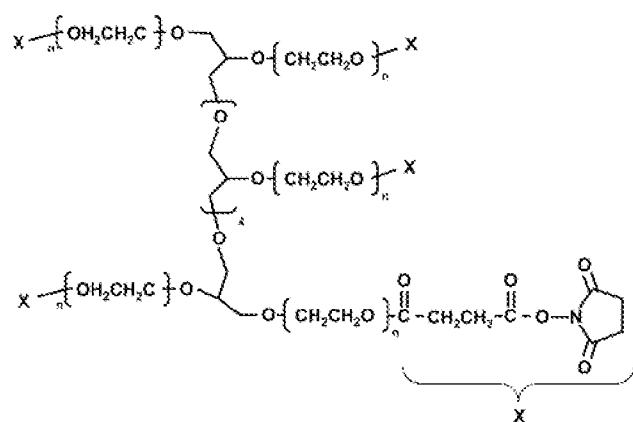




- 5 en donde cada R² es de manera independiente un "grupo funcional reactivo" o R¹, y cada T, n y "grupo funcional reactivo" es de manera independiente como se ha definido anteriormente y se describe en las clases y subclases del presente documento. La estructura de los PEG ramificados ilustrativos (que tienen 8 brazos o ramas) que comprenden restos de NHS como grupos funcionales reactivos se representa a continuación:

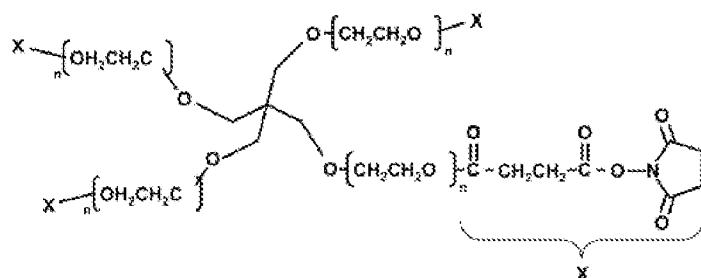


Fórmula VI



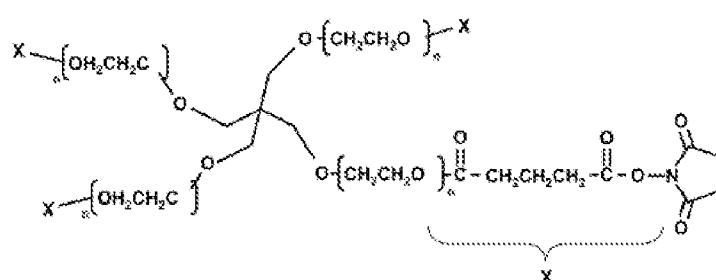
Fórmula VII

- 10 La estructura de los PEG ramificados ilustrativos (que tienen 4 brazos o ramas) que comprenden restos de NHS como grupos funcionales reactivos se representa a continuación:



Fórmula VIII

15



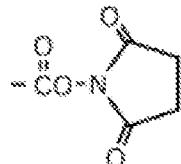
Fórmula IX

- 20 El número de ramas que emanan de la cadena principal puede variar. Por ejemplo, el número 4 en las fórmulas VI y

VII anteriores puede cambiarse a cualquier otro número entero entre 0 y 10.

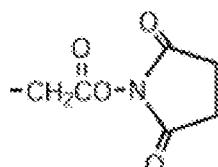
Un PEG ramificado desvelado tiene la estructura de la fórmula VII, VIII o IX (o variantes de las mismas con diferentes números de ramas) con la condición de que x sea

5



Un PEG ramificado desvelado tiene la estructura de la fórmula VII, VIII o IX (o variantes de las mismas con diferentes números de ramas) con la condición de que x sea

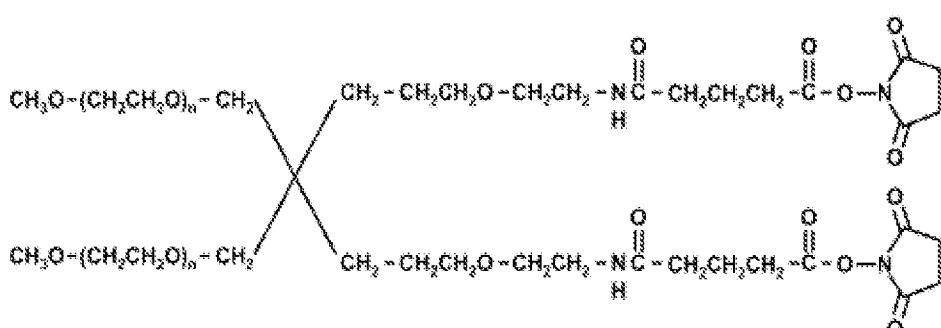
10



Por supuesto, el grupo metíleno (CH_2) en el resto x anterior puede comprender en su lugar una cadena de alquilo más larga (CH_2m), donde m es hasta 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 20 o 30, o puede comprender uno o más restos adicionales descritos en el presente documento.

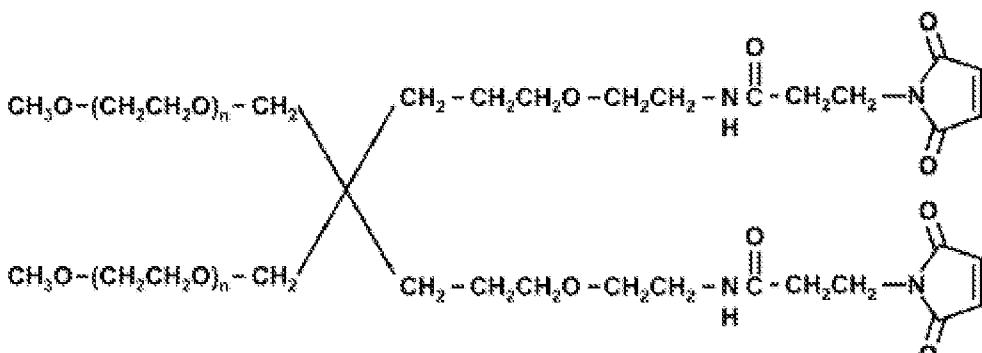
Se representan a continuación PEG ramificados desvelados adicionalmente que tienen grupos reactivos con NHS o maleimida:

15



Fórmula X

20

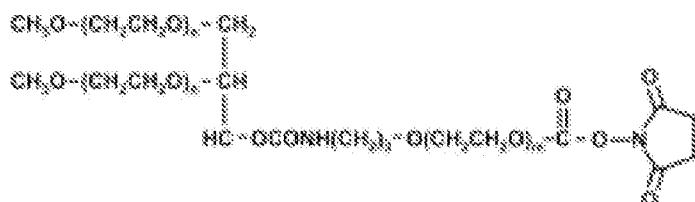
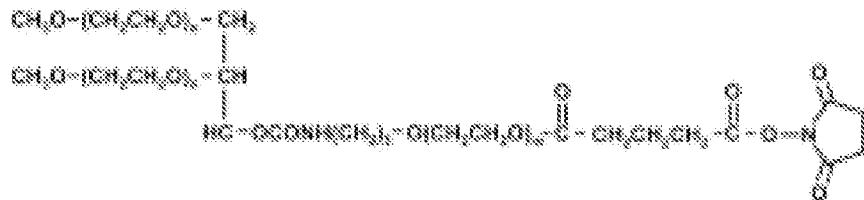


Fórmula XI

25

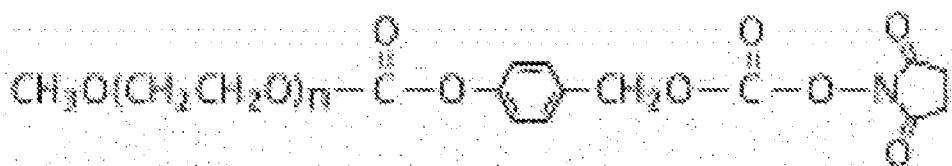
En una variante desvelada de la fórmula X u XI, 3 o cada una de las 4 ramas comprenden un grupo funcional reactivo.

Otros ejemplos más de PEG pueden representarse de la siguiente manera:



15 Como se desvela en el presente documento, se puede incorporar diversos restos entre el componente peptídico y el resto de $(CH_2CH_2O)_n-R$ de un análogo de compstatina de acción prolongada, tales como un alquilo lineal, éster, amida, anillo aromático (p. ej., un fenilo sustituido o no sustituido), una estructura de cicloalquilo sustituido o no sustituido, o combinaciones de los mismos. Dicho(s) resto(s) puede(n) hacer que el compuesto sea más susceptible a la hidrólisis, que puede liberar la parte peptídica del compuesto del CRM. Dicha liberación puede mejorar la penetración tisular *in vivo* y/o actividad del compuesto. La hidrólisis puede ser hidrólisis general (p. ej., ácido-base). La hidrólisis puede ser catalizada por enzimas, p. ej., catalizada por esterasa. Por supuesto, pueden producirse ambos tipos de hidrólisis. Los ejemplos de PEG que comprenden uno o más de dichos restos y un éster de NHS como grupo funcional reactivo son los siguientes:

20



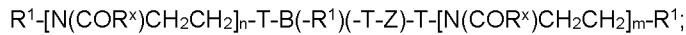
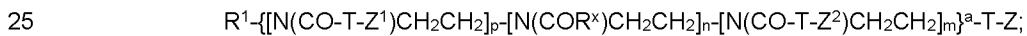
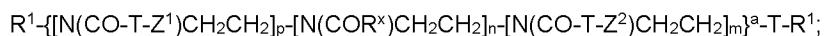
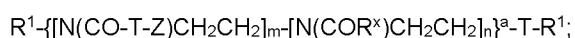
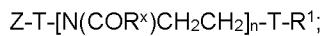
Un PEG ramificado (multi-rama) o PEG en forma de estrella desvelado comprende un núcleo de pentaeritritol, núcleo de hexaglicerina o núcleo de tripentaeritritol. Se entenderá que las ramas pueden no emanar de un solo punto.

Se pueden obtener PEG monofuncionales, bifuncionales, ramificados y otros que comprenden uno o más grupos funcionales reactivos de, p. ej., NOF America Corp. White Plains, NY o BOC Sciences 45-16 Ramsey Road Shirley, NY 11967, Estados Unidos, entre otros, o pueden prepararse usando métodos conocidos en la técnica.

5 En los análogos de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, el CRM está unido a cada resto análogo de compstatina mediante un carbamato.

10 En los análogos de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, los restos de análogo de compstatina de un compuesto multifuncionalizado están unidos al CRM mediante un enlace carbamato. En algunas realizaciones, el enlace no comprende un éster. En algunas realizaciones, el enlace comprende un carbamato y no comprende un éster. En algunas realizaciones, el enlace comprende un carbamato y no comprende un enlace que sea más susceptible a la hidrólisis en medio acuoso que un carbamato. En algunas realizaciones, cada análogo de compstatina está unido directamente al CRM mediante un carbamato.

15 Además, se desvela un análogo de compstatina conjugado con un polímero, en donde el polímero es distinto de PEG. Dicho polímero puede ser una polioxazolina (POZ). Se representan a continuación derivados de polioxazolina mono y polifuncionalizados ilustrativos para conjugación directa o para conjugación a través de un conector:



en donde:

30 cada uno de Z, Z¹ y Z² es de manera independiente un grupo funcional reactivo como se ha definido anteriormente y se describe en las clases y subclases del presente documento;

cada uno de T, R^x y R¹ es de manera independiente como se ha definido anteriormente y se describe en las clases y subclases del presente documento;

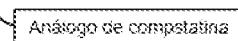
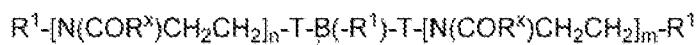
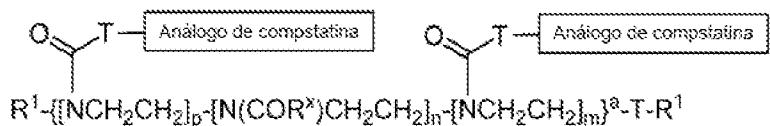
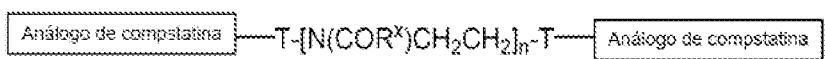
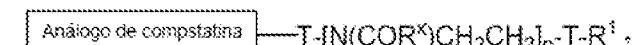
35 cada uno de m, n y p es de manera independiente un número entero de 0-1000, con la limitación de que la suma de m, n y p para cada fórmula no es 0;

a es "al", que indica un copolímero aleatorio o "bloque", que indica un copolímero en bloque;

B es un resto ramificado que está unido con o sin un conector con las otras partes del polímero.

40 Otros ejemplos de derivados de polioxazolina funcionalizados para conjugación se describen ampliamente en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, los descritos en las publicaciones de solicitud de patente PCT n.º WO/2010/006282, WO/2009/089542, WO/2009/043027 y WO/2008/106186.

45 Se representan a continuación conjugados de análogos de compstatina ilustrativos con polímeros de polioxazolina:



en donde cada variable es de manera independiente como se ha definido anteriormente y se describe en las clases y

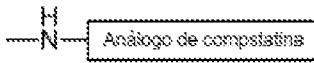
subclases del presente documento.

5 Se desvela adicionalmente un análogo de compstatina conjugado con un polímero, en donde el análogo de compstatina está conectado con el polímero a través de uno o más conectores. Un polímero puede seleccionarse de compuestos y géneros que contienen PEG descritos anteriormente y en las clases y subclases del presente documento. Se desvelan adicionalmente conjugados de análogos de compstatina de compuestos y géneros que contienen PEG representados en el presente documento, en donde el análogo de compstatina está conectado con los restos que contienen PEG a través de uno o más conectores. Los PEG mono y polifuncionales que comprenden uno o más grupos funcionales reactivos para la conjugación se han definido anteriormente y se describen en las clases y subclases del presente documento, incluyendo, pero sin limitación, los de fórmula A, I, Ia, II, III, IIIa, B, IV, IVa, V, Va, C, D, E, F, G, H, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV, XV o XVI.

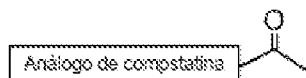
10 Los conectores desvelados para conectar un análogo de compstatina y un resto polimérico tal como PEG o polioxazolina se han descrito ampliamente anteriormente y en las clases y subclases del presente documento. Un 15 conector puede tener múltiples grupos funcionales, en donde un grupo funcional está conectado con un análogo de compstatina y otro está conectado a un resto polimérico. Un conector puede ser un compuesto bifuncional. Un conector puede tener la estructura de $\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OH}$, en donde n es de 1 a 1000. Un conector desvelado comprende ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEAc). Se puede activar un conector para la conjugación con un resto 20 polimérico o un grupo funcional de un análogo de compstatina. Por ejemplo, el grupo carboxilo de AEEAc puede activarse antes de la conjugación con el grupo amina de la cadena lateral de un grupo lisina.

25 En los análogos de compstatina para su uso de acuerdo con la invención, se usa un grupo amina en cada análogo de compstatina para la conjugación con un resto de PEG. El grupo amina es el grupo amina de la cadena lateral de lisina. Cada análogo de compstatina se conjuga con un resto de PEG mediante el grupo amino de una cadena lateral de lisina a través de un conector que comprende AEEAc. El extremo C de cada análogo de compstatina está conectado 30 al grupo amino de AEEAc, y el extremo C de AEEAc está conectado a un residuo de lisina. El C-terminal de cada análogo de compstatina está conectado al grupo amino de AEEAc, y el C-terminal de AEEAc está conectado al grupo α -amino de un residuo de lisina. El extremo C de cada análogo de compstatina está conectado al grupo amino de AEEAc, el extremo C de AEEAc está conectado al grupo α -amino del residuo de lisina, y el resto de PEG está conjugado a través del grupo ϵ -amino de dicho residuo de lisina. El extremo C del residuo de lisina puede modificarse, p. Ej. por amidación. El extremo N de un análogo de compstatina está acetilado.

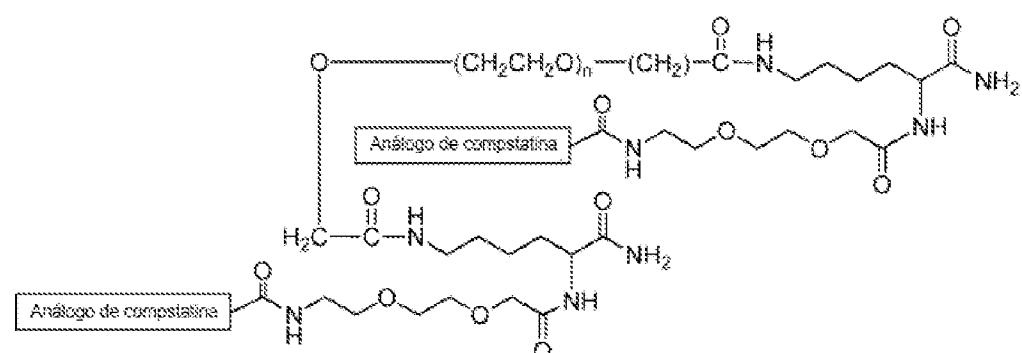
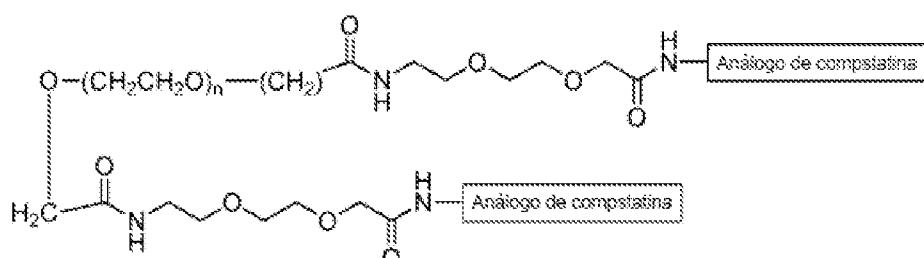
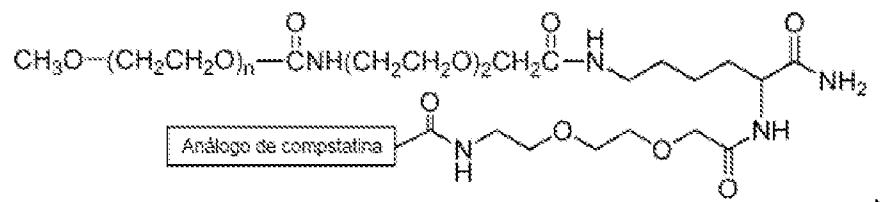
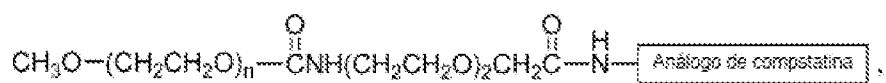
A continuación, se representan conjugados adicionales que comprenden un conector AEEAc y un polímero, en donde

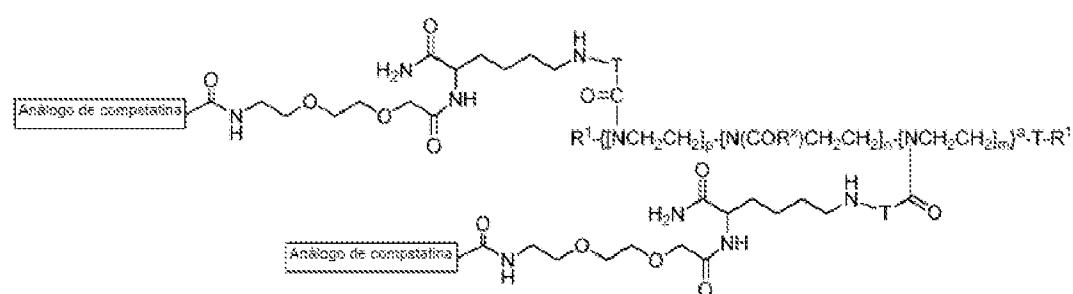
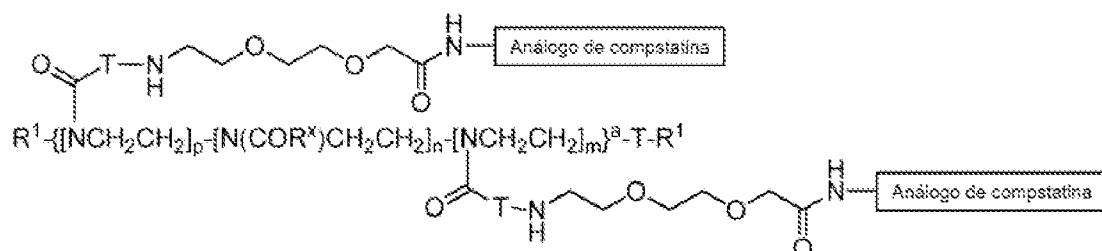
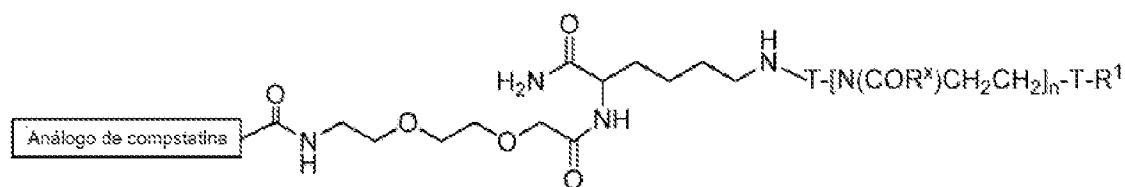
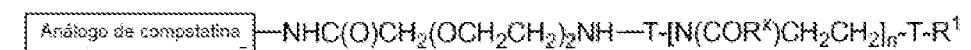
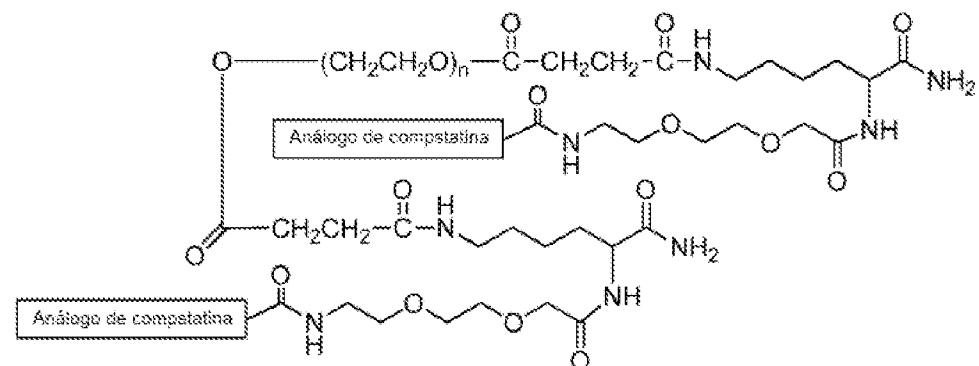
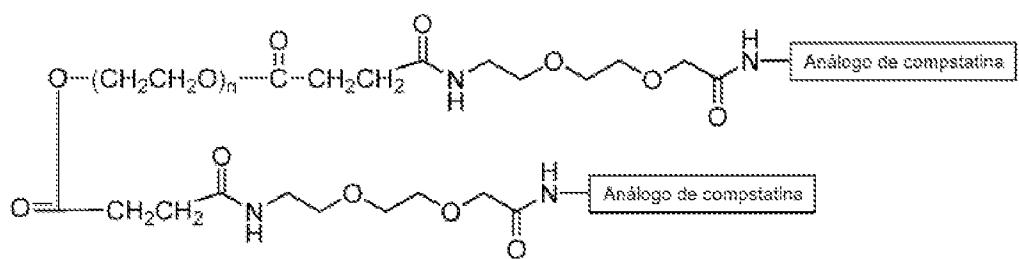


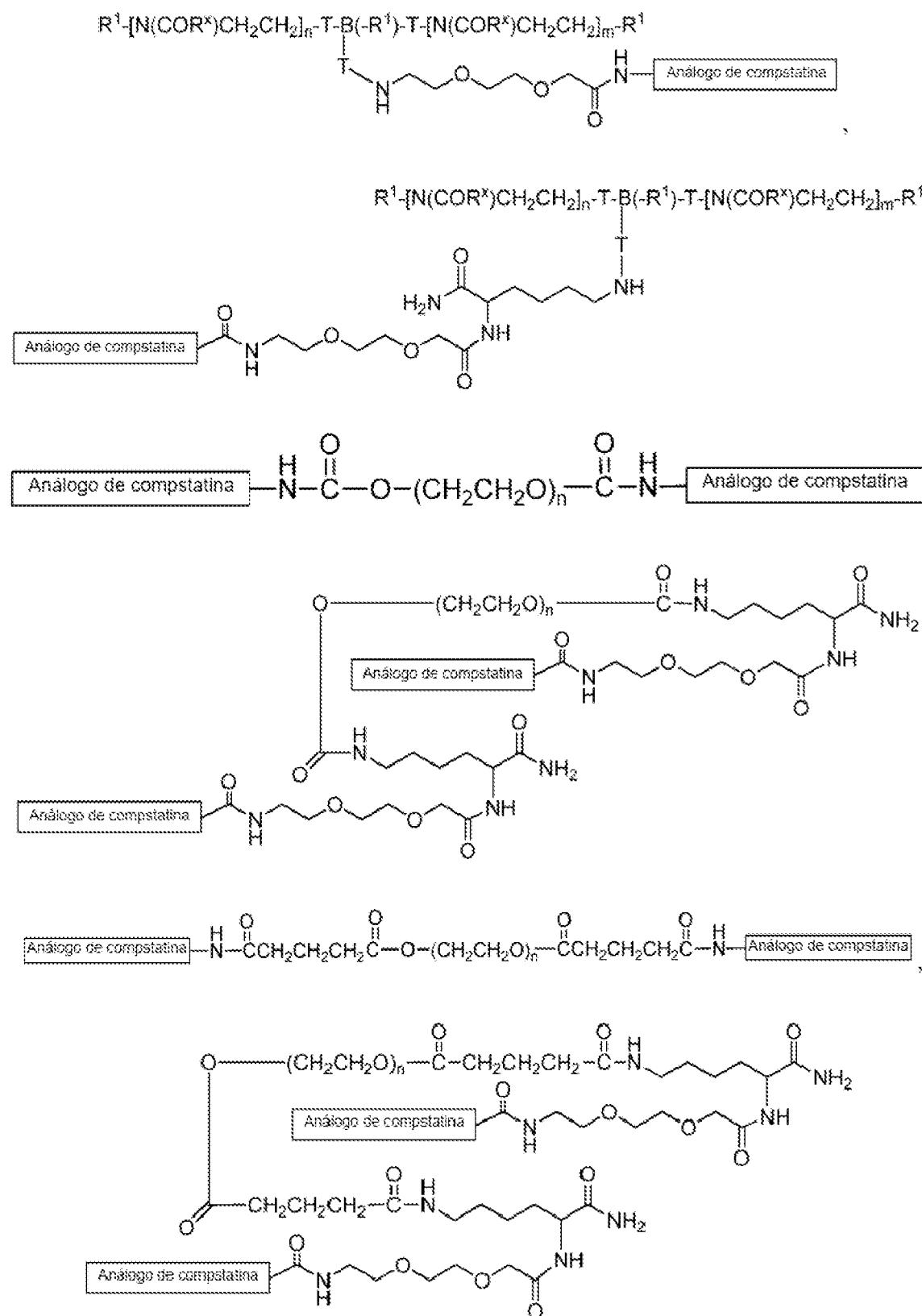
representa el punto de unión de un grupo amina en un análogo de compstatina,



representa un análogo de compstatina que se une a través de su extremo C y en donde cada una de las otras variables es de manera independiente como se ha definido anteriormente y se describe en las clases y subclases con la presente. En algunas realizaciones, un grupo amina es el grupo amino de una cadena lateral de lisina.







- 5 Un análogo de compstatina puede representarse como M-AEEAc-Lys-B₂, en donde B₂ es un resto bloqueante, p. ej., NH₂, M representa cualquiera de las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A, con la condición de que el aminoácido C-terminal de cualquiera de las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A se unen mediante un enlace peptídico con AEEAc-Lys-B₂. El resto de NHS de un PEG monofuncional o multifuncional (p. ej., bifuncional) reacciona con la amina libre de la cadena lateral de lisina para generar un análogo de compstatina de acción

prolongada multifuncionalizado (múltiples restos análogos de compstatina) o monofuncionalizado (un resto análogo de compstatina). Cualquier aminoácido que comprenda una cadena lateral que comprenda un grupo funcional reactivo puede usarse en lugar de Lys (o además de Lys). Un PEG monofuncional o multifuncional que comprende un grupo funcional reactivo adecuado puede hacerse reaccionar con dicha cadena lateral de manera análoga a la reacción de PEG activados con éster de NHS con Lys.

Con respecto a cualquiera de las fórmulas y estructuras anteriores, debe entenderse que cuando el componente análogo de compstatina comprende cualquier análogo de compstatina descrito en el presente documento, p. ej., cualquier análogo de compstatina de las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A, 41A, se desvela expresamente.

El análogo de compstatina para su uso de acuerdo con la invención comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28. Un análogo de compstatina de acción prolongada ilustrativo para su uso de acuerdo con la invención y en el que el componente análogo de compstatina comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 se representa en la figura 10(C). El resto de PEG tiene un peso molecular promedio de 40 kD. En ocasiones, el compuesto se denomina en el presente documento como CA28-2TS-BF. El compuesto tiene una semivida terminal de al menos aproximadamente 5 días, p. ej., aproximadamente 5-10 días, p. ej., aproximadamente 5, 6, 7, 8, 9 días, cuando se administra IV o por vía subcutánea a primates no humanos o seres humanos, p. ej., a una dosis de aproximadamente 1-3 mg/kg, 3-5 mg/kg o 5-10 mg/kg.

Los análogos de compstatina desvelados pueden comprender tanto un grupo funcional reactivo con células como un CRM. Un grupo o resto funcional reactivo con células puede reemplazarse por un resto $(CH_2CH_2O)_n$ (p. ej., cualquiera de los PEG descritos en el presente documento) u otro polímero (p. ej., un POZ, un polipéptido) que tiene un peso molecular de al menos 500 daltons, p. ej., al menos 1.500 daltons hasta aproximadamente 100.000 daltons (p. ej., un peso molecular promedio de aproximadamente 20.000; 30.000; 40.000; 50.000; 60.000; 70.000; 80.000; 90.000; o 100.000 daltons). El peso molecular promedio del compuesto o los restos $(CH_2CH_2O)_n$ (u otro polímero, p. ej., un POZ, un polipéptido) puede ser de al menos 20.000 daltons, hasta aproximadamente 100.000; 120.000; 140.000; 160.000; 180.000; o 200.000 daltons.

Por tanto, se entenderá que las enseñanzas del presente documento relativas a los análogos de compstatina reactivos con células, p. ej., los restos de análogo de compstatina usados y los enlaces con los que se une un análogo de compstatina a un resto reactivo con células, pueden aplicarse a análogos de compstatina de acción prolongada y los el análogo de compstatina de acción prolongada puede tener cualquiera de las estructuras indicadas por A-L-M, como se ha descrito anteriormente, en donde A comprende un resto reductor del aclaramiento (p. ej., cualquiera de los restos reductores del aclaramiento descritos en el presente documento) y además en donde puede haber uno, dos o más (p. ej., 3, 4, 5, 6, 7, 8) restos de análogo de compstatina M unidos a A mediante porciones de enlace indicadas como L (o L^{P1} , L^{P2} , L^{P3}) en el presente documento. Los restos de análogo de compstatina desvelados pueden comprender un péptido cuya secuencia comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A o variaciones de las mismas (p. ej., cualquier variante descrita en el presente documento), extendida opcionalmente por uno o más aminoácidos en el extremo N, el extremo C o ambos, en donde al menos uno de los aminoácidos tiene una cadena lateral que comprende un grupo funcional reactivo, tal como una amina primaria o secundaria (p. ej., una Lys), un grupo sulfidrilo, un grupo carboxilo (que puede estar presente como un grupo carboxilato), un grupo guanidinio, un grupo fenol, un anillo de indol, un tioéter o un anillo de imidazol, que facilita la conjugación de un resto que comprende un CRM al análogo de compstatina (entendiéndose que después de la conjugación, dicho grupo funcional reactivo habrá reaccionado para formar un enlace). Se entenderá adicionalmente que cuando se extiende un resto de análogo de compstatina que comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 3-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A, o variantes de las mismas, en uno o más aminoácidos en el extremo N, el extremo C o ambos, en donde al menos uno de los aminoácidos tiene una cadena lateral que comprende un grupo funcional reactivo, dicha extensión de uno o más aminoácidos puede separarse de la porción cíclica del resto de análogo de compstatina mediante un resto espaciador rígido o flexible que comprende, por ejemplo, una cadena de alquilo saturada o insaturada, sustituida o sin sustituir, una cadena de oligo(etilenglicol) y/o cualquiera de los demás restos indicados por L (o L^{P1} , L^{P2} o L^{P3}) en el presente documento.

A continuación, se exponen análogos de compstatina de acción prolongada desvelados adicionalmente, en donde n es suficiente para proporcionar un peso molecular promedio de entre aproximadamente 500; 1.000; 1.500; 2.000; 5.000; 10.000; 20.000; 30.000; 40.000; 50.000; 60.000; 70.000; 80.000; 90.000; y 100.000 daltons. n puede ser suficiente para proporcionar un peso molecular promedio de entre aproximadamente 20.000 daltons, hasta aproximadamente 100.000; 120.000; 140.000; 160.000; 180.000; o 200.000 daltons.

$(CH_2CH_2O)_nC(=O)-Ile-Cys-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys-Thr-NH_2$ (SEQ ID NO: 58)

$Ac-Ile-Cys^*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys^*-Thr-NH-CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2-$
 $C(=O)-Lys-C(=O)-(CH_2CH_2O)_n-NH_2$ (SEQ ID NO: 59)

$Ac-Ile-Cys^*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys^*-Thr-Lys-C(=O)-(CH_2CH_2O)_n-NH_2$ (SEQ ID NO: 60).

$Ac-Ile-Cys^*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys^*-Thr-(Gly)_5-Lys-C(=O)-(CH_2CH_2O)_n-$
 NH_2 (SEQ ID NO: 61)

$Ac-(CH_2CH_2O)_nC(=O)Lys-(Gly)_5-Ile-Cys^*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys^*-Thr-$

NH₂) (SEQ ID NO: 62)

Ac-(CH₂CH₂O)_nC(=O)Lys-Ile- Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr - *NH₂)* (SEQ ID NO: 63)

- 5 En la SEQ ID NO: 58, el (CH₂CH₂O)_n está acoplado mediante un enlace amida con el aminoácido N-terminal. En las SEQ ID NO: 59-63, el resto de (CH₂CH₂O)_n se acopla mediante un enlace amida con una cadena lateral de Lys; por tanto, se entenderá que el *NH₂* en el extremo C en las SEQ ID NO: 59, 60 y 61, representa la amidación del extremo C del péptido y se entenderá que en las SEQ ID NO: 62 y 63, el **Ac** en el extremo N representa la acetilación del extremo N del péptido, como se ha descrito anteriormente. Los expertos en la materia también apreciarán que un extremo libre de un resto de (CH₂CH₂O)_n normalmente termina con un (OR) donde la O subrayada representa el átomo de O en el grupo (CH₂CH₂O) terminal. (OR) es con frecuencia un resto tal como un grupo hidroxilo (OH) o metoxi (-OCH₃) aunque se podrían usar otros grupos (p. ej., otros grupos alcoxi). Por tanto, la SEQ ID NO: 59, por ejemplo, puede representarse como Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂-C(=O)-Lys-(C(=O)-(CH₂CH₂O)_n-R)-NH₂ (SEQ ID NO: 64) en donde R es, p. ej., H o CH₃ en el caso de un PEG lineal. En el caso de un PEG bifuncional, ramificado o en forma de estrella, R representa el resto de la molécula. Además, se entenderá que el resto que comprende el grupo funcional reactivo puede variar, como se describe en el presente documento (p. ej., según cualquiera de las fórmulas descritas en el presente documento). Por ejemplo, los análogos de compstatina de acción prolongada que comprenden la misma secuencia peptídica que la SEQ ID NO: 64, en los que el resto que comprende el grupo funcional reactivo comprende un éster y/o una cadena alquílica, puede representarse de la siguiente manera

Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂-C(=O)-Lys-(C(=O)-(CH₂)_m-(CH₂CH₂O)_n-R)-NH₂ (SEQ ID NO: 65);
 Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂-C(=O)-Lys-(C(=O)-(CH₂)_mC(=O)-(CH₂CH₂O)_n-R)-NH₂ (SEQ ID NO: 66);
 Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-NH-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂-C(=O)-Lys-(C(=O)-(CH₂)_mC(=O)-(CH₂)_j (CH₂CH₂O)_n-R)-NH₂ (SEQ ID NO: 67)

- 30 En las SEQ ID NO: 65-67 m pueden variar desde 1 hasta aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 15, 20 o 30, en la SEQ ID NO: 67 j puede variar desde 1 hasta aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 15, 20 o 30.

También se apreciará que, como se describe en el presente documento, se pueden incorporar otros restos entre Lys-(C(=O)- y (CH₂CH₂O)_n-R, tales como una amida, anillo aromático (p. ej., un fenilo sustituido o no sustituido) o una estructura de cicloalquilo sustituido o no sustituido.

- 35 Se desvelan en el presente documento variantes de las SEQ ID NO: 58-67 en las que -Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr- se reemplaza por una secuencia de aminoácidos que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquier otro análogo de compstatina, p. ej., de cualquiera de las SEQ ID NO 3-27 o 29-36, 37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41A, con la condición de que el(s) resto(s) bloqueante(s) presente(s) en los extremos N y/o C de un análogo de compstatina puede(n) estar ausente(s), reemplazado por un conector (que puede comprender un resto bloqueante) o unido con un aminoácido N o C-terminal diferente presente en la(s) variante(s) correspondiente(s).

- 40 Cualquier análogo de compstatina, p. ej., cualquier compuesto que comprenda cualquiera de las SEQ ID NO: 3-37, 37A, 38A, 39A, 40A o 41 A se puede unir a través de o cerca de su extremo N-terminal o C-terminal (p. ej., a través de una cadena lateral de un aminoácido en o cerca de su aminoácido N-terminal o C-terminal) directa o indirectamente con cualquier resto que comprenda un grupo funcional reactivo, p. ej., cualquier compuesto de las fórmulas I - XVI o fórmulas A-H.

- 45 Otros CRM desvelados comprenden un polipéptido que se produce en suero humano o un fragmento del mismo o una variante sustancialmente similar del polipéptido o fragmento del mismo. Dicho polipéptido, fragmento o variante puede tener un peso molecular de entre 5 kD y 150 kD, p. ej., al menos 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 kd o más, p. ej., entre 100 y 120 o 120 y 150 kD. La producción de un análogo de compstatina de acción prolongada puede comprender hacer reaccionar un análogo de compstatina que comprende un grupo funcional reactivo con una o más cadenas laterales de aminoácidos del polipéptido, en donde la cadena lateral comprende un grupo funcional compatible. La producción de un análogo de compstatina de acción prolongada puede comprender hacer reaccionar un análogo de compstatina que comprende un grupo funcional reactivo con la amina N-terminal y/o el grupo carboxilo C-terminal del polipéptido. La producción de un análogo de compstatina de acción prolongada puede comprender hacer reaccionar un análogo de compstatina que comprende un grupo funcional reactivo con amina con aminoácidos que tienen una cadena lateral que comprende una amina primaria (p. ej., lisina) y/o con la amina N-terminal del polipéptido. La producción de un análogo de compstatina de acción prolongada puede comprender hacer reaccionar un análogo de compstatina que comprende un grupo funcional reactivo con carboxilo con el grupo carboxilo C-terminal del polipéptido. Puede unirse un resto análogo de compstatina en cada extremo del polipéptido y, opcionalmente, a la cadena lateral de uno o más aminoácidos internos. La producción de un análogo de compstatina de acción prolongada puede comprender hacer reaccionar un análogo de compstatina que comprende un grupo funcional reactivo con sulfhidrilo con uno o más grupos sulfhidrilo del polipéptido.

En algunos aspectos desvelados, se introduce al menos un grupo funcional reactivo en el polipéptido. Por ejemplo, en algunos aspectos de la divulgación se modifica al menos una cadena lateral del polipéptido para convertir un primer grupo funcional reactivo en un grupo funcional reactivo diferente antes de la reacción con el análogo de compstatina. En algunos aspectos de la divulgación, se introduce un tiol. Existen varios métodos disponibles para introducir tioles en biomoléculas, incluida la reducción de disulfuros intrínsecos, así como la conversión de grupos amina, aldehído o ácido carboxílico en grupos tiol. Las reticulaciones de disulfuro de cistinas en proteínas pueden reducirse a residuos de cisteína mediante ditiotreitol (DTT), tris-(2-carboxietil)fosfina (TCEP) o tris-(2-cianoetil)fosfina. Las aminas se pueden tiolar indirectamente mediante reacción con 3-(2-piridilditio)propionato de succinimidilo (SPDP) seguido de la reducción del conjugado de 3-(2-piridilditio)propionilo con DTT o TCEP. Las aminas pueden tiolarse indirectamente mediante reacción con acetiltioacetato de succinimidilo seguido de la eliminación del grupo acetilo con hidroxilamina o hidracina 50 mM a pH casi neutro. Las aminas se pueden tiolar directamente mediante reacción con 2-iminotiolano, lo que conserva la carga general de la molécula e introduce un tiol libre. Los residuos de triptófano en proteínas sin tiol pueden oxidarse a residuos de mercaptotriptófano, que después pueden modificarse mediante yodoacetamidas o maleimidas. Un polipéptido que comprende uno o más tioles puede hacerse reaccionar con un análogo de compstatina que comprende un grupo maleimida, tal como Ac-Ile-Cys*-Val-Trp(1-Me)-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-AEEAc-Lys-(C(=O)-(CH₂)₅-Mal)-NH₂ (SEQ ID NO: 68) para generar un análogo de compstatina de acción prolongada.

En algunos aspectos de la divulgación el polipéptido se introduce de manera recombinante. En algunos aspectos de la divulgación el polipéptido se produce al menos en parte de manera recombinante (p. ej., en bacterias o en células hospedadoras eucariotas tales como fúngicas, de insectos, vegetales o de vertebrados) y/o al menos en parte producirse mediante síntesis química. El polipéptido se puede purificar. Por ejemplo, en algunos aspectos de la divulgación el polipéptido se purifica a partir de un lisado de células hospedadoras o del medio de cultivo en el que ha sido secretado por las células hospedadoras. En algunos aspectos de la divulgación el polipéptido está glucosilado. En algunos aspectos de la divulgación el polipéptido no está glucosilado. En algunos aspectos de la divulgación el polipéptido es seroalbúmina humana (HSA). En algunos aspectos de la divulgación, una variante sustancialmente similar del polipéptido es suficientemente similar al polipéptido del que es una variante para que no sea reconocida como extraña por un sistema inmunitario normal de un sujeto, p. ej., un sujeto humano. En algunos aspectos de la divulgación se seleccionan alteraciones en la secuencia de una variante sustancialmente similar en comparación con el polipéptido del que es una variante para evitar generar epitopos del MHC de clase I. Se pueden usar diversos métodos conocidos en la técnica para predecir si una secuencia comprende un epitopo del MHC de clase I.

En algunos aspectos de la divulgación, uno o más aminoácidos en un polipéptido o conector o composición pueden seleccionarse para ser hidrófobos o hidrófilos o seleccionarse para conferir mayor hidrofilia o mayor hidrofobicidad, a un compuesto que los contenga. Como se conoce en la técnica, los términos "hidrófilo" e "hidrófobo" se usan para hacer referencia al grado de afinidad que una sustancia tiene con el agua. En algunos aspectos, una sustancia hidrófila tiene fuerte afinidad por el agua, tendiendo a disolverse en, mezclarse con o humedecerse con agua, mientras que una sustancia hidrófoba carece sustancialmente de afinidad por el agua, tendiendo a repeler y no absorber agua y tendiendo a no disolverse en, mezclarse con o humedecerse con agua. Los aminoácidos se pueden clasificar en función de su hidrofobicidad como se conoce bien en la técnica. Son ejemplos de "aminoácidos hidrófilos" arginina, lisina, treonina, alanina, asparagina, glutamina, aspartato, glutamato, serina y glicina. Son ejemplos de "aminoácidos hidrófobos" triptófano, tirosina, fenilalanina, metionina, leucina, isoleucina y valina. Puede usarse un análogo de un aminoácido convencional, en donde el análogo tiene mayor o menor carácter hidrófilo o hidrófobo en comparación con el aminoácido del que es análogo.

El análogo de compstatina proporcionado para su uso de acuerdo con la invención consiste en un resto reductor del aclaramiento como se define en el presente documento unido a dos restos análogos de compstatina como se definen en el presente documento. Además, se desvelan multímeros, p. ej., concatámeros, que comprenden dos o más (p. ej., entre 2 y 10) análogos de compstatina que comprenden un CRM, en donde el peso molecular promedio de la molécula resultante (o los componentes CRM de la misma) es de entre 20.000; 30.000; 40.000; 50.000; 60.000; 70.000; 80.000; 90.000; y 100.000 daltons. El peso molecular promedio de la molécula resultante (o los componentes CRM de la misma) puede ser de al menos 20.000 daltons, hasta aproximadamente 100.000; 120.000; 140.000; 160.000; 180.000; o 200.000 daltons. Los análogos de compstatina que comprenden un CRM pueden unirse usando cualquiera de los restos de unión descritos anteriormente.

En algunos aspectos desvelados, el peso molecular total del análogo de compstatina de acción prolongada, que incluye los restos de análogo de compstatina, no es mayor de 50 kD. Por ejemplo, en el caso de un ACAP que comprende un PEG de 40 kD, en algunos aspectos desvelado, el peso molecular aportado por el resto del compuesto, que incluye los restos de análogo de compstatina, puede no ser mayor de 10 kD, p. ej., de 1,5 kD - 5,0 kD o de 5,0 kD - 10 kD. El peso molecular total de un ACAP desvelado, que incluye los restos de análogo de compstatina, es de entre 45 kD y 50 kD. El peso molecular total de un ACAP desvelado, que incluye los restos de análogo de compstatina, es de entre 40 kD y 45 kD, entre 14 kD y 40 kD, p. ej., entre 15 kD y 25 kD, entre 25 kD y 35 kD, entre 35 kD y 40 kD. Por tanto, siempre que la presente divulgación se refiere a un análogo de compstatina que comprende un polímero o CRM que tiene un peso molecular particular o que tiene un peso molecular dentro de un intervalo concreto, el peso molecular total del análogo de compstatina puede ser, p. ej., entre 1,5 kD y 5 kD mayor que el peso molecular del polímero o CRM, o entre 5 kD y 10 kD mayor que el peso molecular del polímero. Se entenderá que el peso molecular de un compuesto, p. ej., un compuesto que comprende un polímero, puede hacer referencia al peso molecular

promedio de las moléculas de dicho compuesto en una composición.

Una amplia diversidad de métodos y ensayos útiles para la detección de polímeros, p. ej., PEG, POZ y/o polipéptidos y/o útiles para la medición de propiedades físicas y/o estructurales de polímeros, p. ej., PEG, POZ y/o polipéptidos son conocidos en la técnica y pueden, si se desea, usarse para detectar un análogo de compstatina, p. ej., un análogo de compstatina dirigido, de acción prolongada, reactivo con células, o un resto análogo de compstatina. Por ejemplo, están disponibles métodos y ensayos útiles para determinar propiedades como la agregación, la solubilidad, el tamaño, la estructura, las propiedades de fusión, la pureza, la presencia de productos de degradación o los contaminantes, el contenido de agua, el radio hidrodinámico, etc., Dichos métodos incluyen, p. ej., centrifugación analítica, diversos tipos de cromatografía, tales como cromatografía líquida (p. ej., HPLC-intercambio iónico, HPLC-exclusión por tamaño, HPLC-fase inversa), dispersión de luz, electroforesis capilar, dicroísmo circular, calorimetría isotérmica, calorimetría diferencial de barrido, fluorescencia, infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopia Raman, refractometría, espectroscopia UV/visible, espectrometría de masas, métodos inmunológicos, etc. Se entenderá que los métodos pueden combinarse. En algunos aspectos, un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido (o composición que comprende un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido) tiene una o más propiedades descritas en el presente documento, según lo evaluado usando cualquiera de los métodos anteriores. En algunos aspectos, se describen en el presente documento métodos útiles para detectar y/o cuantificar un análogo de compstatina de acción prolongada.

20 VI. Análogos de compstatina dirigidos

También se desvelan análogos de compstatina dirigidos que comprenden un resto de direccionamiento y un resto análogo de compstatina, en donde el resto de direccionamiento se une de manera no covalente con una molécula diana. Los análogos de compstatina dirigidos pueden ser análogos a los análogos de compstatina reactivos con células descritos en la Sección VI, en donde los compuestos comprenden un resto de direccionamiento además de, o en lugar de, un resto reactivo con células. El resto de direccionamiento puede comprender, p. ej., un anticuerpo, polipéptido, péptido, ácido nucleico (p. ej., un aptámero), hidrato de carbono, molécula pequeña o complejo supramolecular, que se une específicamente con la molécula diana. La afinidad (medida por la constante de disociación en equilibrio, K_d) del resto de direccionamiento para la molécula diana (medida por la constante de disociación en equilibrio, K_d) puede ser 10^{-3} M o menos, p. ej., 10^{-4} M o menos, p. ej., 10^{-5} M o menos, p. ej., 10^{-6} M o menos, 10^{-7} M o menos, 10^{-8} M o menos o 10^{-9} M o menos en las condiciones probadas, p. ej., en condiciones fisiológicas.

En aspectos desvelados en que el resto de direccionamiento es un anticuerpo, el anticuerpo puede ser cualquier inmunoglobulina o un derivado de la misma, que mantiene la capacidad de unión o cualquier proteína que tenga un dominio de unión que sea homólogo o en gran parte homólogo de un dominio de unión a inmunoglobulina. Dichas proteínas pueden obtenerse de fuentes naturales o producirse de manera parcial o completamente sintética (p. ej., usando técnicas de ADN recombinante, síntesis química, etc.). El anticuerpo puede ser de cualquier especie, p. ej., ser humano, roedor, conejo, cabra, pollo, etc. El anticuerpo puede ser un miembro de cualquier clase de inmunoglobulina, incluyendo cualquiera de las clases humanas: IgG, IgM, IgA, IgD e IgE. El anticuerpo puede ser un fragmento de un anticuerpo tal como un Fab', F(ab')₂, scFv (variable de cadena sencilla) u otro fragmento que conserva un sitio de unión a antígeno o un fragmento scFv producido de manera recombinante, incluyendo fragmentos producidos de manera recombinante. Véase, p. ej., Allen, T., *Nature Reviews Cancer*, Vol. 2, 750-765, 2002 y referencias en la misma. Se pueden usar anticuerpos monovalentes, bivalentes o multivalentes. El anticuerpo puede ser un anticuerpo químérico en el que, por ejemplo, un dominio variable de origen de roedores se fusiona con un dominio constante de origen humano, conservando de este modo la especificidad del anticuerpo de roedor. Se puede generar un anticuerpo humano o parte del mismo, por ejemplo, en roedores cuyo genoma incorpora genes de inmunoglobulina humana, usando una tecnología de presentación tal como presentación en fagos, etc. Se puede generar un anticuerpo humanizado injetando una o más regiones determinantes de complementariedad de una especie no humana (p. ej., ratón) en una secuencia de anticuerpo humano. El anticuerpo puede ser parcial o completamente humanizado. Véase, p. ej., Almagro JC, Fransson J. Humanization of antibodies. *Front Biosci.* 13: 1619-33 (2008) para la revisión de diversos métodos para obtener anticuerpos humanizados que pueden usarse para obtener un resto de direccionamiento. Un anticuerpo puede ser políclonal o monoclonal, aunque se prefieren en general anticuerpos monoclonales. Se usa normalmente un fragmento F(ab')₂ o un F(ab'). También se usan normalmente anticuerpos que comprenden un dominio Fc. Se conocen en la técnica métodos para producir anticuerpos que se unen específicamente con prácticamente cualquier molécula de interés. Por ejemplo, se pueden purificar anticuerpos monoclonales o políclonales de fuentes naturales, p. ej., de sangre o líquido ascítico de un animal que produce el anticuerpo (p. ej., después de la inmunización con la molécula o un fragmento antigénico de la misma) o puede producirse de manera recombinante, en cultivo celular. Se conocen en la técnica métodos para generar fragmentos de anticuerpos, p. ej., por digestión, reducción de disulfuro o síntesis.

60 Un resto de direccionamiento puede ser cualquier molécula que se une específicamente con una molécula diana a través de un mecanismo distinto de una interacción de antígeno-anticuerpo. Dicho resto de direccionamiento se denomina "ligando". Por ejemplo, un ligando puede ser un polipéptido, péptido, ácido nucleico (p. ej., ADN o ARN), hidrato de carbono, lípido o fosfolípido, o molécula pequeña. Una molécula pequeña puede ser un compuesto orgánico, ya sea de origen natural o creado artificialmente, que tiene un peso molecular relativamente bajo y no es una proteína, polipéptido, ácido nucleico o lípido, normalmente con un peso molecular de menos de aproximadamente 1500 g/mol

- 5 y que tiene normalmente múltiples enlaces de carbono-carbono. En general, un aptámero es un oligonucleótido (p. ej., ARN o ADN, que comprende opcionalmente uno o más nucleósidos modificados (p. ej., bases o azúcares distintas de la 5 bases convencionales (A, G, C, T, U) o azúcares (ribosa y desoxirribosa) que se encuentran más habitualmente en ARN y ADN) o enlaces internucleósidos modificados (p. ej., enlaces no fosfodiéster) que, p. ej., estabilizan la 10 molécula, p. ej., al hacerlo más resistente a la degradación por nucleasas) que se une con una proteína particular. Un oligonucleótido tiene normalmente hasta aproximadamente 100 nucleósidos de longitud, p. ej., entre 12 y 100 nucleósidos de longitud. Los aptámeros se pueden obtener usando un proceso de evolución *in vitro* denominado SELEX y se conocen en la técnica métodos para obtener aptámeros específicos para una proteína de interés. Véase, p. ej., Brody E N, Gold L. J Biotechnol. marzo de 2000; 74 (1): 5-13. Puede usarse un ácido nucleico peptídico o un 15 ácido nucleico bloqueado.
- 15 Un resto de direccionamiento puede comprender un péptido. Un péptido que se une a una molécula diana de interés puede identificarse utilizando tecnología de presentación tal como presentación en fagos, presentación en ribosomas, 20 presentación en levadura, etc.
- 15 Se pueden usar moléculas pequeñas como ligandos. Se conocen en la técnica métodos para identificar dichos ligandos. Por ejemplo, la exploración *in vitro* de bibliotecas de moléculas pequeñas, incluyendo bibliotecas combinatorias y exploración por ordenador, p. ej., para identificar compuestos orgánicos pequeños que se unen con 25 superficies cóncavas (bolsas) de proteínas, puede identificar ligandos de moléculas pequeñas para numerosas proteínas de interés (Huang, Z., Pharm. & Ther. 86: 201-215, 2000).
- 25 Normalmente, los restos de direccionamiento no son proteínas o moléculas que se usen normalmente como vehículos y se conjugan con antígenos con el fin de inducir anticuerpos. Los ejemplos son proteínas o moléculas transportadoras tales como seroalbúmina bovina, hemocianina de lapa californiana, gammaglobulina bovina y toxina diftérica. El resto de direccionamiento normalmente no es una parte Fc de una molécula de inmunoglobulina. Un resto de direccionamiento puede ser parte de un complejo que comprende uno o más restos adicionales con los que está unido de manera covalente o no covalente.
- 30 Una molécula diana puede ser cualquier molécula producida por una célula (incluyendo cualquier forma expresada en la superficie celular o formas modificadas de la misma que resulten al menos en parte de la modificación extracelular). Una molécula diana puede ser una sustancia extracelular presente en o sobre un tejido. Una molécula diana puede ser característica de un estado enfermo o fisiológico particular o característica de uno o más tipos celulares o tipos 35 tisulares. Una molécula diana es con frecuencia una molécula presente al menos parcialmente en la superficie celular (p. ej., una proteína transmembrana o unida a membrana de otro modo) de modo que al menos una parte de la molécula sea accesible para la unión por un agente de unión extracelular tal como un anticuerpo. Una molécula diana puede ser, pero no es necesariamente, específica de tipo celular. Por ejemplo, una molécula diana específica de tipo 40 celular es con frecuencia una proteína, un péptido, un ARNm, un lípido o un hidrato de carbono que está presente a un nivel mayor sobre o en un tipo celular particular o tipos celulares que sobre o en muchos otros tipos celulares. En algunos casos, una molécula diana específica de tipo celular está presente a niveles detectables solo sobre o en un tipo celular particular de interés. Sin embargo, se apreciará que no es necesario que una molécula diana específica de tipo de célula útil sea absolutamente específica para el tipo celular de interés para ser considerada específica de tipo celular. Una molécula diana específica de tipo celular para un tipo celular particular puede expresarse a niveles al menos 45 3 veces mayores en ese tipo celular que en una población de referencia de células que puede consistir, por ejemplo, en una mezcla que contiene células de una pluralidad (p. ej., 5-10 o más) de diferentes tejidos u órganos en cantidades aproximadamente iguales. La molécula diana específica de tipo celular puede estar presente a niveles al menos 4-5 veces, entre 5-10 veces o más de 10 veces mayor que su expresión promedio en una población de referencia. La detección o medición de una molécula diana específica de tipo celular puede permitir a un experto habitual en la materia distinguir un tipo de célula o tipos de interés de células de muchos, la mayoría o todos los demás tipos. En general, la presencia y/o abundancia de la mayoría de moléculas diana puede determinarse usando una o más 50 técnicas convencionales tales como transferencia de Northern, hibridación *in situ*, RT-PCR, secuenciación, métodos inmunológicos tales como inmunotransferencia, inmunodetección (p. ej., por inmunohistoquímica) o detección de fluorescencia después de tinción con anticuerpos marcados con fluorescencia (p. ej., usando FACS), oligonucleótido o micromatriz de ADNc o matriz de membrana, análisis de micromatrizes de proteínas, espectrometría de masas, etc.
- 55 Una molécula diana puede ser un canal, transportador, receptor u otra molécula al menos en parte expuesta en la superficie celular. Una molécula diana puede ser un transportador de aniones o un canal de agua (p. ej., una proteína acuaporina).
- 60 La molécula diana puede ser una proteína al menos en parte expuesta en la superficie de glóbulos rojos, tal como una glucoforina (p. ej., glucoforina A, B, C o D) o banda 3.
- 65 La molécula diana puede ser una proteína al menos en parte expuesta en la superficie de células endoteliales. La molécula diana puede estar presente en la superficie de vasculatura normal, sana. La molécula diana puede estar presente en la superficie de células endoteliales activadas. La molécula diana puede estar presente en la superficie de células endoteliales activadas, pero no en la superficie de células endoteliales no activadas. Una molécula diana

- es normalmente una molécula cuya expresión o exposición es inducida por un estímulo tal como lesión o inflamación. Una molécula diana sería reconocida habitualmente como "no propia" por un receptor que recibe un trasplante que contiene células que expresan la molécula diana. La molécula diana es en ocasiones un xenoantígeno de hidrato de carbono para el que se encuentran habitualmente anticuerpos en seres humanos. En ocasiones, el hidrato de carbono comprende un antígeno del grupo sanguíneo. En ocasiones, el hidrato de carbono comprende un xenoantígeno, p. ej., un epítopo alfa-gal (Galalpha1-3Galbeta1-(3)4GlcNAc-R) (véase, p. ej., Macher BA y Galili U. The Galalpha1, 3Galbeta1, 4GlcNAc-R (alpha-Gal) epitope: a carbohydrate of unique evolution and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta.* 1780 (2): 75-88 (2008)).
- 10 Alguno análogos de compstatina desvelados comprenden tanto un resto de direccionamiento como un CRM.
- Un análogo de compstatina dirigido puede comprender múltiples restos de direccionamiento, que pueden ser iguales o diferentes. Diferentes restos de direccionamiento pueden unirse con la misma molécula diana o con diferentes moléculas diana. Un análogo de compstatina dirigido puede ser multivalente con respecto al resto de direccionamiento, el análogo de compstatina o ambos.
- 15 Se puede producir un análogo de compstatina dirigido usando métodos en general similares a los descritos en la sección VI, en donde se usa un resto de direccionamiento en lugar de, o además de, un resto reactivo de células. Un análogo de compstatina dirigido que comprende un péptido como un resto de direccionamiento puede sintetizarse como una cadena polipeptídica que comprende un resto análogo de compstatina y un resto de direccionamiento al péptido. Opcionalmente, la cadena polipeptídica comprende uno o más péptidos espaciadores entre el resto análogo de compstatina y el resto de direccionamiento.
- 20 25 Un análogo de compstatina dirigido puede tener una actividad molar de al menos aproximadamente 10 %, 20 % o 30 %, p. ej., entre 30 % y 40 %, entre 30 % y 50 %, entre 30 % y 60 %, entre 30 % y 70 %, entre 30 % y 80 %, entre 30 % y 90 %, o más, de la actividad de un análogo de compstatina correspondiente que tiene la misma secuencia de aminoácidos (y, si procede, uno o más restos bloqueantes) pero que no comprende un resto de direccionamiento. En donde un análogo de compstatina dirigido comprende múltiples restos análogos de compstatina, la actividad molar del análogo de compstatina dirigido puede ser al menos de aproximadamente 10 %, 20 % o 30 %, p. ej., entre 30 % y 40 %, entre 30 % y 50 %, entre 30 % y 60 %, entre 30 % y 70 %, entre 30 % y 80 %, entre 30 % y 90 %, o más, de la suma de las actividades de dichos restos análogos de compstatina.
- 30
- VII. Usos**
- 35 Los análogos de compstatina reactivos con células, de acción prolongada o dirigidos tienen una amplia diversidad de usos. Determinados usos de análogos de compstatina reactivos con células, de acción prolongada o dirigidos, y aspectos relacionados se describen en el presente documento.
- 40 Un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido puede administrarse a un sujeto que padece o está en riesgo de daño mediado por el complemento a un órgano, tejido o células. Un análogo de compstatina reactivo con células puede ponerse en contacto con un órgano, tejido o células *ex vivo* y se unen covalentemente con los mismos. El órgano, tejido o células pueden introducirse en un sujeto y están protegidos contra daño que de otro modo sería provocado por el sistema del complemento del receptor.
- 45 50 Los análogos de compstatina que no se unen covalentemente a las células pueden usarse para los fines descritos en el presente documento. Por ejemplo, el análogo de compstatina de acción prolongada para su uso de acuerdo con la invención comprende un resto de PEG que aumenta la vida útil del compuesto en el cuerpo. Cuando el análisis a continuación se refiere a un análogo de compstatina reactivo con células, la invención proporciona usos análogos relacionados con el análogo de compstatina de acción prolongada proporcionado para su uso de acuerdo con la invención.
- 55 La invención proporciona un análogo de compstatina de acción prolongada como se define en el presente documento para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento en un sujeto que lo necesite. El trastorno ocular mediado por el complemento es degeneración macular asociada a la edad (DMAE), opcionalmente atrofia geográfica o DMAE intermedia.
- 60 Otras aplicaciones desveladas incluyen: (1) proteger los glóbulos rojos (RBC) del daño mediado por complemento en individuos con trastornos tales como hemoglobinuria paroxística nocturna o síndrome urémico hemolítico atípico u otros trastornos caracterizados por lisis de glóbulos rojos mediada por el complemento; (2) proteger órganos, tejidos y células transplantados del daño mediado por el complemento; (3) reducir la lesión por isquemia/reperfusión (I/R) (p. ej., en individuos que padecen traumatismo, obstrucción vascular, infarto de miocardio u otras situaciones en las que puede producirse una lesión I/R); y (4) proteger diversas estructuras corporales (p. ej., la retina) o membranas (p. ej., membrana sinovial) que pueden estar expuestas a componentes del complemento del daño mediado por el complemento en cualquiera de diversos trastornos diferentes mediados por el complemento. Los efectos beneficiosos de inhibir la activación del complemento en la superficie de las células u otras estructuras corporales no se limitan a los que resultan directamente de la protección de las células o las estructuras en sí mismas contra el daño directo
- 65

mediado por el complemento (p. ej., prevención de la lisis celular). Por ejemplo, inhibir la activación del complemento usando un análogo de compstatina reactivo con células puede reducir la generación de anafilotoxinas y el flujo de entrada/activación resultante de neutrófilos y otros acontecimientos proinflamatorios y/o reducir la liberación potencialmente perjudicial de contenidos intracelulares, teniendo de este modo potencialmente efectos beneficiosos en sistemas de órganos remotos o en todo el cuerpo.

A. Protección de células sanguíneas

- 5 En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, un análogo de compstatina dirigido a células y/o un análogo de compstatina no dirigido (p. ej., un análogo de compstatina no dirigido de acción prolongada) para su uso en proteger las células sanguíneas contra el daño mediado por el complemento. Las células sanguíneas pueden ser cualquier componente celular de la sangre, p. ej., glóbulos rojos (RBC), glóbulos blancos (WBC) y/o plaquetas. Un análogo de compstatina dirigido a células puede dirigirse a una molécula diana expuesta en la superficie celular de glóbulos rojos, tal como una glucorifina o banda 3. Diversos trastornos están asociados con el daño mediado por el complemento en células sanguíneas. Dichos trastornos pueden resultar, por ejemplo, de deficiencias o defectos en uno o más de las PRC celulares o solubles de un individuo, p. ej., debido a una mutación(ones) en el(los) gen(es) que codifica(n) dicha(s) proteína(s); (b) mutación(ones) en genes necesarios para la producción o función adecuada de una o más PRC y/o (c) presencia de autoanticuerpos para una o más PRC. La lisis de glóbulos rojos mediada por el complemento puede resultar de la presencia de autoanticuerpos contra antígenos de glóbulos rojos que pueden surgir debido a un conjunto diverso de causas (que son, con frecuencia, idiopáticas). Los individuos que tienen dicha(s) mutación(ones) en genes que codifican PRC y/o que tienen anticuerpos contra PRC o contra sus propios glóbulos rojos tienen mayor riesgo de trastornos que implican daño de glóbulos rojos mediado por el complemento. Los individuos que han tenido uno o más episodios característicos de un trastorno tienen mayor riesgo de recaída.
- 10 25 La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es un trastorno relativamente poco habitual que comprende una anemia hemolítica adquirida caracterizada por hemólisis intravascular mediada por el complemento, hemoglobinuria, insuficiencia de la médula ósea y trombopenia (propensión a desarrollar coágulos sanguíneos). Afecta a una estimación de 16 individuos por millón en todo el mundo, aparece en ambos sexos y puede surgir a cualquier edad, aquejando con frecuencia a adultos jóvenes (Bessler, M. y Hiken, J., *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 104-110 (2008); Hillmen, P. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 116-123 (2008)). La HPN es una enfermedad crónica y debilitante jalona de episodios hemolíticos agudos y da como resultado morbilidades significativas y reducción de la esperanza de vida. Además de anemia, muchos pacientes experimentan dolor abdominal, disfagia, disfunción eréctil e hipertensión pulmonar, y tienen mayor riesgo de insuficiencia renal y acontecimientos tromboembólicos.
- 30 35 La HPN se describió por primera vez como una entidad definida en el siglo XIX, pero no fue hasta la década de 1950, con el descubrimiento de la ruta alternativa de activación del complemento, que se estableció firmemente la causa de la hemólisis en la HPN (Parker CJ. *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: an historical overview*. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 93-103 (2008)). CD55 y CD59 normalmente están unidos a la membrana celular a través de anclajes de glicosilfosfatidilinositol (GPI) (estructuras de glucolípidos que anclan determinadas proteínas a la membrana plasmática). La HPN surge como consecuencia de la expansión clonal no maligna de células madre hematopoyéticas que han adquirido una mutación somática en el gen de PIGA, que codifica una proteína implicada en la síntesis de anclajes de GPI (Takeda J, *et al.* *Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Cell*. 73: 703-711 (1993)). La descendencia de dichas células madre es deficiente en proteínas ancladas por GPI, incluyendo CD55 y CD59. Este defecto hace que estas células sean susceptibles a la lisis de glóbulos rojos mediada por el complemento. Se usa con frecuencia análisis por citometría de flujo usando anticuerpos para proteínas ancladas por GPI para el diagnóstico. Detecta la deficiencia de proteínas ancladas por GPI en la superficie celular y permite la determinación del grado de deficiencia y la proporción de células afectadas (Brodsky RA. *Advances in the diagnosis and therapy of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Blood Rev*. 22 (2): 65-74 (2008)). Los glóbulos rojos de HPN de tipo III son completamente deficientes en proteínas unidas a GPI y son muy sensibles al complemento, mientras que los glóbulos rojos de HPN de tipo II tienen una deficiencia parcial y son menos sensibles. FLAER es una variante inactiva marcada con fluorescencia de proaerolisina (una toxina bacteriana que se une a anclajes de GPI) y se usa cada vez más junto con citometría de flujo para el diagnóstico de HPN. La falta de unión de FLAER con granulocitos es suficiente para el diagnóstico de HPN. Los análogos de compstatina reactivos con células pueden proteger los glóbulos rojos de HPN de la deposición de C3b.
- 40 45 50 55 En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece síndrome hemolítico atípico (SHUa). SHUa es un trastorno crónico caracterizado por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda y está provocado por la activación inadecuada del complemento, con frecuencia debido a mutaciones en genes que codifican proteínas reguladoras del complemento (Warwicker, P., *et al.* *Kidney Int* 53, 836-844 (1998); Kavanagh, D. y Goodship, T. *Pediatr Nephrol* 25, 2431-2442 (2010)). Las mutaciones en el gen del factor H del complemento (FHC) son la anomalía genética más común en pacientes con SHUa, y 60-70 % de estos pacientes mueren o alcanzan la etapa final de insuficiencia renal en un periodo de un año después del inicio de la enfermedad (Kavanagh y Goodship, mencionado anteriormente.) También se han descrito mutaciones en el factor I, el factor B, C3, las proteínas 1-5 relacionadas con el factor H y la trombomodulina. Otras causas de SHUa incluyen autoanticuerpos contra proteínas

reguladoras del complemento tales como FHC. Un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido puede administrarse a un sujeto que se ha identificado que tiene una mutación en el factor I, el factor B, C3, proteínas 1-5 relacionadas con el factor H o trombomodulina o se ha identificado que tiene anticuerpos contra una proteína reguladora del complemento, p. ej., FHC.

5 Se produce hemólisis mediada por el complemento en un grupo diverso de otras afecciones, incluyendo anemias hemolíticas autoinmunitarias que implican anticuerpos que se unen con glóbulos rojos y conducen a hemólisis mediada por el complemento. Por ejemplo, dicha hemólisis puede producirse en la enfermedad de aglutinina fría crónica primaria y determinadas reacciones a fármacos y otras sustancias extrañas (Berentsen, S., *et al.*, *Hematology* 12, 361-370 (2007); Rosse, W. F., Hillmen, P. y Schreiber, A. D. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 48-62 (2004)). En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de enfermedad de aglutinina fría crónica. Además, en el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de síndrome HELLP, que se define por la existencia de hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y bajo 10 recuento plaquetario y se asocia con mutaciones en proteína(s) reguladora(s) del complemento en al menos algunos sujetos (Fakhouri, F., *et al.*, 112: 4542-4545 (2008)).

15 En el presente documento se desvelan análogos de compstatina reactivos con células para su uso en la protección de los glóbulos rojos u otros componentes celulares de la sangre para transfundir a un sujeto. Determinados ejemplos 20 de dichos usos se analizan adicionalmente a continuación. Como se ha observado anteriormente, pueden usarse análogos de compstatina dirigidos y/o de acción prolongada para inhibir la hemólisis mediada por el complemento y/o el daño a glóbulos rojos. En el presente documento se desvela un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un resto (CH₂CH₂O) para su uso en el tratamiento de la HPN o SHUa.

25 B. Trasplante

30 El trasplante es un enfoque terapéutico de creciente importancia, que proporciona un medio para reemplazar órganos y tejidos que han sido dañados por traumatismo, enfermedad u otras afecciones. Los riñones, el hígado, los pulmones, el páncreas y el corazón se encuentran entre los órganos que se pueden trasplantar con éxito. Los tejidos que se 35 transplantan con frecuencia incluyen huesos, cartílago, tendones, córnea, piel, válvulas cardíacas y vasos sanguíneos. El trasplante de islotes pancreáticos o células de islotes pancreáticos es un enfoque prometedor para el tratamiento de la diabetes, p. ej., diabetes de tipo I. Un órgano, tejido o célula (o población de células) que se va a trasplantar, se está trasplantando o se ha trasplantado puede denominarse "injerto". Una transfusión de sangre se considera un "injerto".

35 El trasplante somete al injerto a diversos acontecimientos y estímulos perjudiciales que pueden contribuir a la disfunción del injerto y, potencialmente, su fracaso. Por ejemplo, la lesión por isquemia-reperfusión (I/R) es una causa habitual y significativa de morbilidad y mortalidad en el caso de muchos injertos (en particular órganos sólidos) y puede 40 ser un determinante importante de la probabilidad de supervivencia del injerto. El rechazo de trasplante es uno de los principales riesgos asociados con los trasplantes entre individuos genéticamente diferentes y puede conducir al fracaso del injerto y la necesidad de retirar el injerto del receptor.

45 En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, un análogo de compstatina dirigido a células y/o un análogo de compstatina de acción prolongada para su uso en proteger un injerto del daño mediado por el complemento. Un análogo de compstatina reactivo con células reacciona con células del injerto, se une covalentemente con las mismas e inhibe la activación del complemento. Un análogo de compstatina dirigido a células se une a una molécula diana en el injerto (p. ej., expresada por células endoteliales u otras células en el injerto) 50 e inhibe la activación del complemento. Una molécula diana puede ser, p. ej., es una molécula cuya expresión es inducida o estimulada por un estímulo tal como lesión o inflamación, molécula que sería reconocida como "no propia" por el receptor, un xenoantígeno de hidrato de carbono para el que se encuentran habitualmente anticuerpos en seres humanos tales como un antígeno del grupo sanguíneo o un xenoantígeno, p. ej., una molécula que comprende un epítopo alfa-gal. Se puede demostrar una reducción en la activación del complemento mediante una reducción en el depósito promedio de C4d en los vasos sanguíneos de injertos que han entrado en contacto con un análogo de compstatina, p. ej., un análogo de compstatina reactivo con células, en comparación con el nivel promedio de depósito 55 de C4d en injertos que no han entrado en contacto con un análogo de compstatina (p. ej., en sujetos que coinciden con respecto a los injertos y otras terapias que reciben).

60 Como se desvela en el presente documento, se puede poner en contacto un injerto con un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido antes, durante y/o después del trasplante. Por ejemplo, antes del trasplante, un injerto extraído de un donante puede ponerse en contacto con un líquido que comprende un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido. Por ejemplo, el injerto puede bañarse y/o perfundirse con la solución. Un análogo de compstatina de acción prolongada, reactivo con células o dirigido puede administrarse a un donante antes de la extracción del injerto. Un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada, o dirigido puede administrarse a un receptor durante y/o después de la introducción del injerto. Un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido puede administrarse localmente al injerto 65 trasplantado. Un análogo de compstatina reactivo con células puede administrarse sistémicamente, por ejemplo, por

vía intravenosa.

Se desvela en el presente documento una composición que comprende: (a) un injerto aislado; y (b) un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido. La composición desvelada puede comprender

5 además una solución líquida adecuada para poner en contacto (p. ej., adecuado para aclarar, lavar, bañar, perfundir, mantener o almacenar) un injerto (p. ej., un órgano) tal como un injerto aislado que se ha extraído de un donante y está esperando el trasplante a un receptor. Se desvela en el presente documento una composición que comprende: (a) una solución líquida adecuada para poner en contacto un injerto (p. ej., un órgano); y (b) un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido. La solución líquida puede ser cualquier solución líquida que sea 10 fisiológicamente aceptable para el injerto (p. ej., composición osmótica adecuada, no citotóxica) y médica mente aceptable en vista de la introducción posterior del injerto en el receptor (p. ej., preferentemente estéril o al menos razonablemente exento de microorganismos u otros contaminantes) y compatible con el análogo de compstatina reactivo con células (es decir, no destruirá la reactividad del análogo de compstatina) o compatible con el análogo de compstatina de acción prolongada o dirigido. La solución puede ser cualquier solución conocida en la técnica para 15 tales fines. Una solución líquida desvelada es citrato de Marshall o hiperosmolar (Soltran®, Baxter Healthcare), Solución de la Universidad de Wisconsin (UW) (ViaSpan™, Bristol Myers Squibb), solución de cetoglutarato de triptófano de histidina (HTK) (Custodial®, Kohler Medical Limited), EuroCollins (Fresenius) y Celsior® (Sangstat Medical), Polisol, IGL-1 o AQIX® RS-1. Por supuesto, podrían usarse otras soluciones, p. ej., que contengan 20 ingredientes equivalentes o similares en las mismas o diferentes concentraciones dentro del alcance de composiciones fisiológicamente aceptables. Una solución normalmente no contiene ingrediente(s) con el(s) que se esperaría que el análogo de compstatina reactivo con células reaccionara de manera significativa y cualquier solución puede modificarse o diseñarse para que carezca de dichos ingredientes. El análogo de compstatina reactivo con células 25 puede estar presente en la solución compatible con injertos a una concentración de, p. ej., entre 0,01 mg/ml y 100 mg/ml o se pueden añadir a la solución para lograr dicha concentración.

25 También se desvela un equipo que comprende: (a) un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido; y (b) una solución compatible con injerto o componentes sólidos (p. ej., polvo) de la misma. El análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido puede proporcionarse en forma sólida (p. ej., polvo) o al menos en parte disuelto en una solución. El análogo de compstatina reactivo con células, de acción 30 prolongada o dirigido y/o solución compatible con injerto se puede proporcionar en cantidades predeterminadas, de modo que, cuando se combinan, se produzca una solución de concentración adecuada para poner en contacto un injerto con el análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido. El análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido y solución compatible con injerto o componentes sólidos (p. ej., polvo) de los mismos pueden estar en contenedores separados dentro del equipo. El análogo de compstatina reactivo 35 con células y los componentes de una solución compatible con injerto pueden proporcionarse ambos en forma sólida (p. ej., en polvo), ya sea en recipientes separados o mezclados. El equipo puede comprender instrucciones de uso, p. ej., instrucciones para añadir un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido a una solución compatible con injerto y/o instrucciones para poner en contacto un injerto con un análogo de compstatina reactivo con células. Opcionalmente, el equipo contiene una etiqueta aprobada por una agencia gubernamental 40 responsable de regular los productos usados en el trasplante, la terapia celular y/o transfusión de sangre.

45 También se desvela en el presente documento un análogo de compstatina para su uso en unión covalente de un análogo de compstatina con un injerto aislado, comprendiendo el uso poner en contacto el injerto aislado con un análogo de compstatina reactivo con células. También se desvela en el presente documento un injerto aislado que tiene un análogo de compstatina unido covalentemente al mismo. Normalmente, el injerto aislado tiene muchas moléculas de análogo de compstatina unidas al mismo. En algunos aspectos desvelados, un injerto es o comprende un órgano sólido tal como un riñón, hígado, pulmón, páncreas o corazón. En algunos aspectos desvelados, un injerto es o comprende hueso, cartílago, fascia, tendón, ligamento, córnea, esclerótica, pericardio, piel, válvula cardíaca, vaso sanguíneo, membrana amniótica o duramadre. En algunos aspectos desvelados, un injerto comprende múltiples órganos, tales como un injerto de corazón-pulmón o páncreas-riñón. En algunos aspectos desvelados, un injerto comprende un órgano o tejido incompleto. Por ejemplo, un injerto puede contener una parte de un órgano o tejido, p. ej., un lóbulo hepático, sección de vaso sanguíneo, colgajo cutáneo o válvula cardíaca. En algunos aspectos desvelados, un injerto comprende una preparación que comprende células aisladas o fragmentos tisulares que se han aislado de su tejido de origen pero que conservan al menos algo de arquitectura tisular, p. ej., islotes pancreáticos. En 50 algunos aspectos desvelados, una preparación comprende células aisladas que no están unidas entre sí a través de tejido conectivo, p. ej., células madre hematopoyéticas o células progenitoras procedentes de sangre periférica y/o del cordón umbilical, o sangre completa o cualquier producto sanguíneo que contenga células, tales como glóbulos rojos (RBC) o plaquetas. En algunos aspectos desvelados, se obtiene un injerto de un donante fallecido (p. ej., un donante de "donación después de la muerte encefálica" (DME) o donante de "donación después de la muerte cardíaca"). En 55 algunos aspectos desvelados, dependiendo del tipo particular de injerto, se obtiene un injerto de un donante vivo. Por ejemplo, los riñones, secciones del hígado, células sanguíneas, se encuentran entre los tipos de injertos que con frecuencia se pueden obtener de un donante vivo sin riesgo excesivo para el donante y de acuerdo con la práctica médica razonable.

60 65 En algunos aspectos desvelados, un injerto es un xenoinjerto (es decir, el donante y el receptor son de especies diferentes). En algunos aspectos desvelados, un injerto es un autoinjerto (es decir, un injerto de una parte del cuerpo

- a otra parte del cuerpo en el mismo individuo). En algunos aspectos desvelados, un injerto es un isoinjerto (es decir, el donante y el receptor son genéticamente idénticos). En la mayoría de los aspectos desvelados, el injerto es un aloinjerto (es decir, el donante y el receptor son miembros genéticamente diferentes de la misma especie). En el caso de un aloinjerto, el donante y el receptor pueden estar o no genéticamente relacionados (p. ej., ser parientes).
- 5 Normalmente, el donante y el receptor tienen grupos sanguíneos compatibles (al menos compatibilidad ABO y opcionalmente Rh, Kell y/u otra compatibilidad de antígenos de células sanguíneas). La sangre del receptor puede haber sido explorada con respecto a aloanticuerpos para el injerto y/o el receptor y el donante, ya que la presencia de dichos anticuerpos puede conducir al rechazo hiperagudo (es decir, el rechazo comienza casi de inmediato), p. ej., en un periodo de varios minutos después de que el injerto entre en contacto con la sangre del receptor). Se puede usar
- 10 un ensayo de citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) para explorar el suero de un sujeto con respecto a anticuerpos anti-HLA. El suero se incuba con un panel de linfocitos de fenotipo HLA conocido. Si el suero contiene anticuerpos contra moléculas de HLA en las células diana, se produce la muerte celular debida a lisis mediada por el complemento. El uso de un panel seleccionado de células diana permite asignar especificidad al anticuerpo detectado. Otras técnicas útiles para determinar la presencia o ausencia de anticuerpos anti-HLA y, opcionalmente, determinar
- 15 su especificidad HLA, incluyen ensayos ELISA, ensayos de citometría de flujo, tecnología de matriz de microperlas (p. ej., tecnología Luminex). La metodología para realizar estos ensayos es bien conocida y están disponibles en el mercado diversos equipos para realizarlos.
- En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso para inhibir el rechazo mediado por el complemento. En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso para inhibir el rechazo hiperagudo. El rechazo hiperagudo está provocado, al menos en parte, por la activación mediada por anticuerpos del sistema del complemento del receptor a través de la ruta clásica y el depósito de MAC resultante en el injerto. Normalmente, resulta de la presencia en el receptor de anticuerpos preexistentes que reaccionan con el injerto. Aunque es deseable intentar evitar el rechazo hiperagudo mediante correspondencia adecuada antes del trasplante, puede que no siempre sea posible hacerlo debido, p. ej., a las limitaciones de tiempo y/o recursos. Asimismo, algunos receptores (p. ej., individuos con múltiples transfusiones, individuos que han recibido trasplantes previamente, mujeres que han tenido múltiples embarazos) pueden tener ya tantos anticuerpos preformados, incluyendo potencialmente anticuerpos para antígenos que normalmente no se prueban, que puede ser difícil o casi imposible obtener con confianza un injerto compatible de manera oportuna. Dichos individuos tienen mayor riesgo de rechazo hiperagudo.
- En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso para inhibir el rechazo agudo o el fracaso del injerto. Como se usa en el presente documento, "rechazo agudo" se refiere al rechazo que se produce entre al menos 24 horas, normalmente al menos de varios días a una semana, después de un trasplante, hasta 6 meses después del trasplante. El rechazo agudo mediado por anticuerpos (RMA) implica con frecuencia un aumento agudo del aloanticuerpo específico de donante (AED) en las primeras semanas después del trasplante. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, es posible que las células plasmáticas preexistentes y/o la conversión de linfocitos B de memoria en células plasmáticas nuevas desempeñen un papel en el aumento de producción de AED. Dichos anticuerpos pueden dar como resultado daño mediado por el complemento al injerto, que puede inhibirse poniendo en contacto el injerto con un análogo de compstatina reactivo con células. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, la inhibición de la activación del complemento en el injerto puede reducir la infiltración de leucocitos (p. ej., neutrófilos), otro contribuyente al fracaso agudo del injerto.
- En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso para inhibir la lesión I/R mediada por el complemento en un injerto. Como se analiza adicionalmente más adelante, se puede producir lesión I/R tras la reperfusión de tejido cuyo aporte sanguíneo se ha interrumpido temporalmente, como sucede en órganos trasplantados. La reducción de la lesión I/R reduciría la probabilidad de disfunción aguda del injerto o reduciría su gravedad, y reduciría la probabilidad de fracaso agudo del injerto.
- 50 En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso para inhibir el rechazo crónico y/o el fracaso crónico del injerto. Como se usa en el presente documento, "rechazo crónico o fracaso del injerto" se refiere al rechazo o fracaso que se produce al menos 6 meses después del trasplante, p. ej., entre 6 meses y 1, 2, 3, 4, 5 años o más después del trasplante, con frecuencia después de meses o años de buena función del injerto. Está provocado por una respuesta inflamatoria e inmunitaria crónica contra el injerto. Para los fines del presente, el rechazo crónico puede incluir vasculopatía crónica de aloinjerto, una expresión usada para hacer referencia a la fibrosis de los vasos sanguíneos internos del tejido transplantado. Ya que los regímenes inmunosupresores han reducido la incidencia del rechazo agudo, el rechazo crónico se está volviendo más prominente como causa de disfunción y fracaso del injerto. Cada vez hay más pruebas de que la producción de aloanticuerpos por linfocitos B es un elemento importante en la génesis del rechazo crónico y el fracaso del injerto (Kwun J. y Knechtle SJ, *Transplantation*, 88 (8): 955-61 (2009)). El daño anterior al injerto puede ser un factor contribuyente que conduce a procesos crónicos tales como fibrosis que en última instancia puede conducir al rechazo crónico. Por tanto, la inhibición de dicho daño anterior usando un análogo de compstatina reactivo con células puede retardar y/o reducir la probabilidad o gravedad del rechazo crónico del injerto.
- 65 En el presente documento se desvela un análogo de compstatina de acción prolongada para su uso en la inhibición del rechazo del injerto y/o el fracaso del injerto cuando se administra a un receptor de injertos.

C. Lesión por isquemia/reperfusión

5 La lesión por isquemia-reperfusión (I/R) es una causa importante del daño tisular después de traumatismo y en otras afecciones asociadas con la interrupción temporal del flujo sanguíneo, tal como infarto de miocardio, ictus, infección grave, enfermedad vascular, reparación de aneurismas, derivación cardiopulmonar y trasplante.

10 En la situación de traumatismo, hipoxemia sistémica, hipotensión e interrupción local del aporte sanguíneo resultante de contusiones, síndrome compartimental y lesiones vasculares provocan isquemia que daña los tejidos metabólicamente activos. La restauración del aporte sanguíneo desencadena una reacción inflamatoria sistémica intensa que con frecuencia es más perjudicial que la isquemia en sí misma. Una vez que se reperfunde la región isquémica, los factores que se producen y liberan localmente entran en el sistema circulatorio y alcanzan ubicaciones remotas, provocando en ocasiones daño significativo a órganos no aquejados por la lesión isquémica original, tales como los pulmones y el intestino, lo que conduce a la disfunción de órganos individuales y múltiples. Se produce 15 activación del complemento poco después de la reperfusión y es un mediador clave del daño postisquémico, tanto directamente como a través de sus efectos quimioatrayentes y estimulantes sobre los neutrófilos. Se activan las tres rutas principales del complemento y, actuando de manera cooperativa o independiente, están implicadas en acontecimientos adversos relacionados con I/R que afectan a numerosos sistemas de órganos. En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso 20 en el tratamiento de un sujeto que recientemente (p. ej., en las 2, 4, 8, 12, 24 o 48 horas anteriores) ha experimentado traumatismo, p. ej., traumatismo que pone al sujeto en riesgo de lesión por I/R, p. ej., debido a hipoxemia sistémica, hipotensión y/o interrupción local del aporte sanguíneo. El análogo de compstatina reactivo con células puede administrarse por vía intravascular, opcionalmente en un vaso sanguíneo que suministra a una parte del cuerpo lesionada o directamente a la parte del cuerpo. El sujeto puede padecer una lesión de la médula espinal, lesión cerebral 25 traumática, quemadura y/o choque hemorrágico.

30 En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto antes, durante o después de un procedimiento quirúrgico, p. ej., un procedimiento quirúrgico que se espera que interrumpa temporalmente el flujo sanguíneo a un tejido, un órgano o una parte del cuerpo. Los ejemplos de dichos procedimientos incluyen derivación cardiopulmonar, angioplastia, reparación/reemplazo de válvula cardíaca, reparación de aneurismas u otras cirugías vasculares. El análogo de compstatina reactivo con células puede administrarse antes, después y/o durante un periodo de tiempo solapante con el procedimiento quirúrgico.

35 En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que ha sufrido un IM, ictus tromboembólico, trombosis venosa profunda o embolia pulmonar. El análogo de compstatina reactivo con células puede administrarse en combinación con un agente trombolítico tal como activador de plasminógeno tisular (tPA) (p. ej., alteplasa (Activase), reteplasa (Retavase), tenecteplasa (TNKase)), anistreplasa (Eminase), estreptocinasa (Kabikinase, Streptase) o urocinasa (Abbokinase). El 40 análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido se puede administrar antes, después y/o durante un periodo de tiempo solapante con el agente trombolítico.

45 En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de lesión por I/R.

D. Otros trastornos mediados por el complemento

50 En la invención, el análogo de compstatina se introduce en el ojo para el tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento. El trastorno ocular mediado por el complemento es degeneración macular asociada a la edad (DMAE). Otros trastornos oculares incluyen retinopatía diabética, glaucoma o uveítis.

55 El análogo de compstatina se introduce en la cavidad vítreo (p. ej., mediante inyección intravítreo), para el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de DMAE. En algunas realizaciones, la DMAE es DMAE neovascular (húmeda). En algunas realizaciones, la DMAE es DMAE seca. Como apreciarán los expertos habituales en la materia, la DMAE seca abarca la atrofia geográfica (AG), la DMAE intermedia y la DMAE temprana. En algunas realizaciones, se trata a un sujeto con AG para frenar o detener la progresión de la enfermedad. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el tratamiento de un sujeto con AG reduce la velocidad de muerte de las células retinianas. Una reducción en la velocidad de muerte de células retinianas puede evidenciarse por una reducción en la velocidad de crecimiento de la lesión de la AG en pacientes tratados con un ACAP, en comparación con el control (p. ej., pacientes 60 a los que se administra una inyección simulada). En algunas realizaciones, un sujeto tiene DMAE intermedia. En algunas realizaciones, un sujeto tiene DMAE temprana. En algunas realizaciones, se trata a un sujeto con DMAE intermedia o DMAE temprana para frenar o detener la progresión de la enfermedad. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el tratamiento de un sujeto con DMAE intermedia puede frenar o prevenir la progresión a una forma avanzada de DMAE (DMAE neovascular o AG). En algunas realizaciones, el tratamiento de un sujeto con DMAE temprana puede frenar o prevenir la progresión en DMAE intermedia. En algunas realizaciones, un ojo tiene tanto AG 65 como DMAE neovascular. En algunas realizaciones, un ojo tiene AG, pero no DMAE húmeda.

- 5 También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido, para su uso cuando se administra mediante inyección intravítreo en el tratamiento del glaucoma, la uveítis (p. ej., la uveítis posterior) o la retinopatía diabética. Un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido puede introducirse en la cámara anterior, p. ej., para tratar la uveítis anterior.
- 10 También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de una enfermedad autoinmunitaria, p. ej., una enfermedad autoinmunitaria mediada al menos en parte por anticuerpos contra uno o más autoantígenos.
- 15 10 Los análogos de compstatina reactivos con células, de acción prolongada o dirigidos pueden introducirse en la cavidad sinovial, p. ej., en un sujeto que padece artritis (p. ej., artritis reumatoide). Por supuesto, pueden administrarse de manera sistémica, de manera adicional o.
- 20 15 También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de una hemorragia intracerebral.
- 25 20 También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o que está en riesgo de padecer miastenia grave.
- 30 25 También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de neuromielitis óptica (NMO).
- 35 30 También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de glomerulonefritis membranoproliferativa (GNMP), p. ej., GNMP de tipo I, GNMP de tipo II o GNMP de tipo III.
- 40 35 También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de una enfermedad neurodegenerativa. También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece dolor neuropático o está en riesgo de desarrollar dolor neuropático. También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de rinosinusitis o poliposis nasal. También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de cáncer. También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de septicemia. También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de síndrome de dificultad respiratoria del adulto.
- 45 40 También se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece o está en riesgo de anafilaxia o reacción a la infusión. Por ejemplo, puede pretratarse a un sujeto antes, durante o después de recibir un fármaco o un vehículo que puede provocar anafilaxia o reacción a la infusión. Un sujeto en riesgo o que padece anafilaxia por un alimento (p. ej., cacahuete, marisco u otros alérgenos alimentarios), picadura de insecto (p. ej., abeja, avispa), puede tratarse con un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido.
- 50 45 Los análogos de compstatina reactivos con células, de acción prolongada o dirigidos pueden administrarse de manera local o sistémica.
- 55 50 Cuando se usan para tratar un trastorno ocular mediado por el complemento que es degeneración macular asociada a la edad (DMAE), opcionalmente atrofia geográfica o DMAE intermedia, de acuerdo con la invención, un análogo de compstatina de acción prolongada como se define en el presente documento se administra por vía intravítreo.
- 60 55 En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de una enfermedad respiratoria, p. ej., asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o fibrosis pulmonar idiopática. El análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido puede, por ejemplo, administrarse al tracto respiratorio por inhalación, p. ej., como polvo seco o mediante nebulización, o puede administrarse por inyección, p. ej., por vía intravenosa, por vía intramuscular o por vía subcutánea. En el presente documento se desvela un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido para su uso en el tratamiento de asma grave, p. ej., asma que no está suficientemente controlada por broncodilatadores y/o corticoesteroides inhalados.
- 65 60 En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento de acción prolongada para su uso en el tratamiento de un trastorno mediado por el complemento, p. ej., un trastorno crónico mediado por el complemento, comprendiendo dicho uso administrar el inhibidor del complemento de acción prolongada a un sujeto que necesite tratamiento para el trastorno. El análogo de compstatina de acción prolongada puede ser cualquier análogo de compstatina de acción

prolongada descrito en el presente documento. En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento de acción prolongada para su uso en el tratamiento de un trastorno asociado con Th17, comprendiendo dicho uso administrar el inhibidor del complemento de acción prolongada a un sujeto que necesite tratamiento para el trastorno.

- 5 En algunos aspectos, un "trastorno crónico" es un trastorno que persiste durante al menos 3 meses y/o es aceptado en la técnica como un trastorno crónico. Un trastorno crónico puede persistir durante al menos 6 meses, p. ej., al menos 1 año o más, p. ej., de manera indefinida. Un experto habitual en la materia apreciará que al menos algunas manifestaciones de diversos trastornos crónicos pueden ser intermitentes y/o su gravedad puede aumentar y disminuir con el tiempo. Un trastorno crónico puede ser progresivo, p. ej., tener una tendencia a ser más grave o afectar a áreas 10 mayores con el tiempo. Se analizan en el presente documento varios trastornos crónicos mediados por el complemento. Un trastorno crónico mediado por el complemento puede ser cualquier trastorno crónico en el que esté implicada la activación del complemento (p. ej., activación excesiva o inadecuada del complemento), p. ej., como un factor contribuyente y/o al menos parcialmente causante. Por conveniencia, los trastornos se agrupan en ocasiones 15 por referencia a un órgano o sistema que con frecuencia se ve particularmente afectado en sujetos que padecen el trastorno. Se apreciará que varios trastornos pueden afectar a múltiples órganos o sistemas y dicha(s) clasificación(ones) no es(son) de ninguna manera limitantes. Asimismo, pueden producirse varias manifestaciones (p. ej., síntomas) en sujetos que padecen cualquiera de varios trastornos diferentes. Se puede encontrar información no limitante acerca de trastornos de interés en el presente documento, p. ej., en los libros de texto convencionales de medicina interna tales como Cecil Textbook of Medicine (p. ej., 23^a edición), Harrison's Principles of Internal Medicine 20 (p. ej., 17^a edición) y/o libros de texto convencionales centrados en áreas particulares de la medicina, sistemas u órganos particulares del cuerpo y/o trastornos particulares.

Un trastorno crónico mediado por el complemento puede ser un trastorno asociado a Th2. Como se usa en el presente documento, un trastorno asociado a Th2 es un trastorno caracterizado por un número excesivo y/o actividad excesiva o inadecuada de linfocitos T adyuvantes CD4+ del subtipo Th2 ("linfocitos Th2") en el cuerpo o una parte del mismo, p. ej., en al menos un tejido, órgano o estructura. Por ejemplo, puede haber un predominio de linfocitos Th2 en relación con linfocitos T auxiliares CD4+ del subtipo Th1 ("linfocitos Th1"), p. ej., en al menos un tejido, órgano o estructura afectada por un trastorno. Como se conoce en la técnica, los linfocitos Th2 normalmente secretan citocinas 25 características tales como interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5) e interleucina-13 (IL-13), mientras que los linfocitos Th1 normalmente secretan interferón-γ (IFN-γ) y factor de necrosis tumoral β (TNF β). Un trastorno asociado a Th2 puede caracterizarse por producción y/o cantidad excesiva de IL-4, IL-5 y/o IL-13, p. ej., en relación con IFN-γ y/o TNF β, p. ej., en al menos algunos de al menos un tejido, órgano o estructura.

30 Un trastorno crónico mediado por el complemento puede ser un trastorno asociado a Th17. Como se describe en más detalle en el documento PCT/US2012/043845, presentado el 22 de junio de 2012, titulado "Methods of Treating Chronic Disorders with Complement Inhibitors", la activación del complemento y los linfocitos Th17 participan en un ciclo que implica células dendríticas y anticuerpos y que contribuye al mantenimiento de un microambiente inmunológico patológico subyacente a una serie de trastornos. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, el microambiente inmunológico patológico, una vez establecido, es autosuficiente y contribuye a la lesión celular y tisular. 35 40 Los análogos de compstatina de acción prolongada pueden usarse para tratar trastornos asociados a Th17.

Como se usa en el presente documento, un trastorno asociado a Th17 es un trastorno caracterizado por un número excesivo y/o actividad excesiva o inadecuada de linfocitos T adyuvantes CD4+ del subtipo Th17 ("linfocitos Th17") en el cuerpo o una parte del mismo, p. ej., en al menos un tejido, órgano o estructura. Por ejemplo, puede haber un predominio de linfocitos Th17 en relación con los linfocitos Th1 y/o Th2, p. ej., en al menos un tejido, órgano o estructura afectada por un trastorno. Un predominio de linfocitos Th17 puede ser un predominio relativo, p. ej., la relación de linfocitos Th17 con respecto a linfocitos Th1 y/o la relación de linfocitos Th17 con respecto a linfocitos Th2, está incrementada en relación con los valores normales. La relación de linfocitos Th17 con respecto a linfocitos T reguladores (linfocitos T reguladores CD4+CD25+, también denominados "linfocitos Treg"), puede estar incrementada 45 50 en relación con los valores normales. La formación de linfocitos Th17 y/o la activación de linfocitos Th17 es promovida por diversas citocinas, p. ej., interleucina 6 (IL-6), interleucina 21 (IL-21), interleucina 23 (IL-23) y/o interleucina 1β (IL-1β). La formación de linfocitos Th17 abarca la diferenciación de linfocitos T precursores, p. ej., linfocitos T CD4+ vírgenes, hacia un fenotipo Th17 y su maduración en linfocitos Th17 funcionales. La formación de linfocitos Th17 puede abarcar cualquier aspecto del desarrollo, la proliferación (expansión), la supervivencia y/o la maduración de linfocitos Th17. Un trastorno asociado a Th17 puede caracterizarse por producción y/o cantidad excesiva de IL-6, IL-21, IL-23 y/o IL-1β. Los linfocitos Th17 normalmente secretan citocinas características tales como interleucina-17A (IL-17A), interleucina-17F (IL-17F), interleucina-21 (IL-21) e interleucina-22 (IL-22). Un trastorno asociado a Th17 puede 55 60 65 caracterizarse por producción y/o cantidad excesiva de una citocina efectora de Th17, p. ej., IL-17A, IL-17F, IL-21 y/o IL-22. La producción o cantidad excesiva de una citocina puede ser detectable en la sangre. La producción o cantidad excesiva de una citocina puede ser detectable localmente, p. ej., en al menos un tejido, órgano o estructura. Un trastorno asociado a Th17 puede estar asociado con un número disminuido de Treg y/o una cantidad disminuida de una citocina asociada a Treg. Un trastorno de Th17 puede ser cualquier enfermedad inflamatoria crónica, abarcando dicha expresión una gama de dolencias caracterizadas por lesiones inmunitarias que se perpetúan a diversos tejidos y que parecen estar disociadas de la lesión inicial que provocó la dolencia (que puede ser desconocida). Un trastorno asociado a Th17 puede ser cualquier enfermedad autoinmunitaria. De hecho, muchas, si no la mayoría de las "enfermedades inflamatorias crónicas" pueden ser enfermedades autoinmunitarias. Los ejemplos de trastornos

- asociados a Th17 incluyen enfermedades cutáneas inflamatorias tales como psoriasis y dermatitis atópica; esclerodermia sistémica y esclerosis; enfermedad inflamatoria intestinal (EI) (tal como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); enfermedad de Behcet; dermatomiositis; polimiositis; esclerosis múltiple (EM); dermatitis; meningitis; encefalitis; uveítis; artrosis; nefritis lúpica; artritis reumatoide (AR), síndrome de Sjogren, esclerosis múltiple, vasculitis;
- 5 trastornos inflamatorios del sistema nervioso central (SNC), hepatitis crónica; pancreatitis crónica, glomerulonefritis; sarcoidosis; tiroiditis, respuestas inmunitarias patológicas al trasplante de tejido/órgano (p. ej., rechazo de trasplante); EPOC, asma, bronquiolitis, neumonitis por hipersensibilidad, fibrosis pulmonar idiopática (FPI), periodontitis y gingivitis. Las enfermedades de Th17 incluyen enfermedades autoinmunitarias conocidas clásicamente, tales como diabetes de tipo I o psoriasis. En algunas realizaciones, un trastorno asociado con Th17 es una degeneración macular asociada a la edad.
- 10 Un trastorno crónico mediado por el complemento puede ser un trastorno asociado a IgE. Como se usa en el presente documento, un "trastorno asociado a IgE" es un trastorno caracterizado por producción y/o cantidad excesiva y/o inadecuada de IgE, actividad excesiva o inadecuada de células productoras de IgE (p. ej., linfocitos B productores de IgE o células plasmáticas) y/o actividad excesiva o inadecuada de células sensibles a IgE tales como eosinófilos o mastocitos. Un trastorno asociado a IgE puede caracterizarse por niveles elevados de IgE total y/o IgE específica de alérgenos, en el plasma de un sujeto y/o localmente.
- 15 Un trastorno crónico mediado por el complemento puede caracterizarse por la presencia de autoanticuerpos y/o complejos inmunitarios en el cuerpo, que pueden activar el complemento a través de, p. ej., la ruta clásica. Los autoanticuerpos pueden, por ejemplo, unirse con antígenos propios, p. ej., en células o tejidos en el cuerpo. Los autoanticuerpos pueden unirse con antígenos en vasos sanguíneos, piel, nervios, músculo, tejido conjuntivo, corazón, riñón, tiroides, etc. Un sujeto puede padecer neuromielitis óptica y producir un autoanticuerpo (p. ej., un autoanticuerpo IgG) dirigido contra la acuaporina 4. Un sujeto puede tener penfigoide y producir un autoanticuerpo (p. ej., un autoanticuerpo IgG o IgE) dirigido contra un componente estructural del hemidesmosoma (p. ej., colágeno XVII transmembrana (BP180 o BPAG2) y/o la proteína BP230 de la familia de plakina (BPAG1). En ocasiones, un trastorno mediado por el complemento no está caracterizado por autoanticuerpos y/o complejos inmunitarios.
- 20 Un trastorno crónico mediado por el complemento puede ser un trastorno respiratorio. Un trastorno respiratorio crónico puede ser asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Un trastorno respiratorio crónico puede ser fibrosis pulmonar (p. ej., fibrosis pulmonar idiopática), lesión pulmonar inducida por radiación, aspergilosis broncopulmonar alérgica, neumonitis por hipersensibilidad (también conocida como alveolitis alérgica), neumonía eosinófila, neumonía intersticial, sarcoide, granulomatosis de Wegener o bronquiolitis obliterante. En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento de acción prolongada para su uso en el tratamiento de un trastorno respiratorio crónico, p. ej., asma, EPOC, fibrosis pulmonar, lesión pulmonar inducida por radiación, aspergilosis broncopulmonar alérgica, neumonitis por hipersensibilidad (también conocida como alveolitis alérgica), neumonía eosinófila, neumonía intersticial, sarcoide, granulomatosis de Wegener o bronquiolitis obliterante, en un sujeto que lo necesite.
- 25 Un trastorno crónico mediado por el complemento puede ser rinitis alérgica, rinosinusitis o poliposis nasal. En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento de acción prolongada para su uso en el tratamiento de la rinitis alérgica, rinosinusitis o poliposis nasal en un sujeto que lo necesite.
- 30 Un trastorno crónico mediado por el complemento puede ser un trastorno que afecta al sistema musculoesquelético. Los ejemplos de dichos trastornos incluyen afecciones inflamatorias de las articulaciones (p. ej., artritis, tal como artritis reumatoide o artritis psoriásica, artritis juvenil crónica, espondiloartropatías, síndrome de Reiter, gota). Un trastorno del sistema musculoesquelético puede provocar síntomas tales como dolor, rigidez y/o limitación del movimiento de la(s) parte(s) del cuerpo afectada(s). Las miopatías inflamatorias incluyen dermatomiositis, polimiositis y diversos otros trastornos de inflamación muscular crónica de etiología desconocida que provocan debilidad muscular. Un trastorno crónico mediado por el complemento puede ser miastenia grave. En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento de acción prolongada para su uso en el tratamiento de cualquiera de los trastornos anteriores que afectan al sistema musculoesquelético en un sujeto que lo necesite.
- 35 Un trastorno crónico mediado por el complemento puede ser un trastorno que afecte al sistema tegumentario. Los ejemplos de dichos trastornos incluyen, p. ej., dermatitis atópica, psoriasis, penfigoide, pénfigo, lupus eritematoso sistémico, dermatomiositis, esclerodermia, esclerodermatomiositis, síndrome de Sjogren y urticaria crónica. En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento de acción prolongada para su uso en el tratamiento de cualquiera de los trastornos anteriores que afectan al sistema tegumentario en un sujeto que lo necesite.
- 40 Un trastorno crónico mediado por el complemento puede afectar al sistema nervioso, p. ej., el sistema nervioso central (SNC) y/o sistema nervioso periférico (SNP). Los ejemplos de dichos trastornos incluyen, p. ej., esclerosis múltiple, otras enfermedades crónicas desmielinizantes (p. ej., neuromielitis óptica), esclerosis lateral amiotrófica, dolor crónico, ictus, neuritis alérgica, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson. En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento de acción prolongada para su uso en el tratamiento de cualquiera de los trastornos anteriores que afectan al sistema nervioso en un sujeto que lo necesite.
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

- Un trastorno crónico mediado por el complemento puede afectar al sistema circulatorio. Por ejemplo, el trastorno puede ser una vasculitis u otro trastorno asociado con la inflamación de los vasos, p. ej., inflamación de los vasos sanguíneos y/o vasos linfáticos. Una vasculitis puede ser poliarteritis nodosa, granulomatosis de Wegener, arteritis de células gigantes, síndrome de Churg-Strauss, poliangeitis microscópica, púrpura de Henoch-Schonlein, arteritis de Takayasu, enfermedad de Kawasaki o enfermedad de Behcet. Un sujeto, p. ej., un sujeto que necesite tratamiento para vasculitis puede ser positivo para el anticuerpo citoplasmático antineutrófilos (ANCA).
- Un trastorno crónico mediado por el complemento puede afectar al sistema gastrointestinal. Por ejemplo, el trastorno puede ser enfermedad inflamatoria intestinal, p. ej., enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa. En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento de acción prolongada para su uso en el tratamiento de un trastorno crónico mediado por el complemento que afecta al sistema gastrointestinal en un sujeto que lo necesite.
- Un trastorno crónico mediado por el complemento puede ser una tiroiditis (p. ej., tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, tiroides postparto), miocarditis, hepatitis (p. ej., hepatitis C), pancreatitis, glomerulonefritis (p. ej., glomerulonefritis membranoproliferativa o glomerulonefritis membranosa) o paniculitis.
- En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento de acción prolongada para su uso en el tratamiento de dolor crónico en un sujeto que lo necesite. Un sujeto puede padecer dolor neuropático. El dolor neuropático se ha definido como dolor iniciado o provocado por una lesión primaria o disfunción en el sistema nervioso, en particular, dolor que surge como consecuencia directa de una lesión o enfermedad que afecta el sistema somatosensorial. Por ejemplo, el dolor neuropático puede surgir de lesiones que implican las rutas somatosensoriales con daño a fibras pequeñas en nervios periféricos y/o al sistema espino-talamocortical en el SNC. El dolor neuropático puede surgir de enfermedad autoinmunitaria (p. ej., esclerosis múltiple), enfermedad metabólica (p. ej., diabetes), infección (p. ej., enfermedad vírica tal como herpes zóster o VIH), enfermedad vascular (p. ej., ictus), traumatismo (p. ej., lesión, cirugía) o cáncer. Por ejemplo, el dolor neuropático puede ser un dolor que persiste después de la curación de una lesión o después de la interrupción de un estímulo de terminaciones nerviosas periféricas o dolor que surge debido al daño a los nervios. Las condiciones ilustrativas de o asociadas con dolor neuropático incluyen neuropatía diabética dolorosa, neuralgia postherpética (p. ej., dolor persistente o recurrente en el sitio del herpes zóster agudo 3 o más meses después del episodio agudo), neuralgia del trigémino, dolor neuropático relacionado con el cáncer, dolor neuropático asociado a quimioterapia, dolor neuropático relacionado con el VIH (p. ej., de neuropatía por VIH), dolor neuropático central/posterior al ictus, neuropatía asociada con dorsalgia, p. ej., lumbalgia (p. ej., por radiculopatía, tal como compresión de la raíz espinal, p. ej., compresión de la raíz lumbar, pudiendo surgir dicha compresión debido a hernia de disco), estenosis espinal, dolor de lesión nerviosa periférica, dolor de miembro fantasma, polineuropatía, dolor relacionado con la lesión de la médula espinal, mielopatía y esclerosis múltiple. Como se desvela en el presente documento, un inhibidor del complemento puede administrarse para tratar el dolor neuropático en un sujeto con una o más de las afecciones mencionadas anteriormente.
- La invención proporciona un análogo de compstatina de acción prolongada como se define en el presente documento para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento que es degeneración macular asociada a la edad (DMAE), opcionalmente atrofia geográfica o DMAE intermedia. El trastorno ocular puede ser un trastorno ocular crónico. El trastorno ocular crónico puede caracterizarse por degeneración macular, neovascularización coroidea (CNV), neovascularización retiniana (RNV), inflamación ocular o cualquier combinación de los anteriores. La degeneración macular, CNV, RNV y/o inflamación ocular pueden ser una característica definitoria y/o diagnóstica del trastorno. Los trastornos ilustrativos que se caracterizan por una o más de estas características incluyen, pero sin limitación, afecciones relacionadas con la degeneración macular, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, vitrorretinopatía proliferativa, uveítis, queratitis, conjuntivitis y escleritis. Las afecciones relacionadas con la degeneración macular incluyen, p. ej., degeneración macular asociada a la edad (DMAE). En algunas realizaciones, un sujeto necesita tratamiento para la DMAE húmeda. En algunas realizaciones, un sujeto necesita tratamiento para la DMAE seca. En algunas realizaciones, un sujeto necesita tratamiento para la atrofia geográfica (AG). En algunas realizaciones, un sujeto necesita tratamiento para la inflamación ocular. La inflamación ocular puede afectar a una gran cantidad de estructuras oculares tales como la conjuntiva (conjuntivitis), córnea (queratitis), epiesclerótica, esclerótica (escleritis), úvea, retina, vasculatura y/o nervio óptico. Las pruebas de inflamación ocular pueden incluir la presencia de células asociadas a inflamación tales como glóbulos blancos (p. ej., neutrófilos, macrófagos) en el ojo, la presencia de mediador(es) inflamatorio(s) endógeno(s), uno o más síntomas tales como dolor ocular, enrojecimiento, sensibilidad a la luz, visión borrosa y moscas volantes, etc. La uveítis es un término general que se refiere a la inflamación en la úvea del ojo, p. ej., en cualquiera de las estructuras de la úvea, incluyendo el iris, cuerpo ciliar o coroides. Los tipos específicos de uveítis incluyen iritis, iridociclitis, ciclitis, pars planitis y coroiditis. En algunas realizaciones, un sujeto necesita tratamiento para la atrofia geográfica (AG). En algunas realizaciones, el trastorno ocular crónico es un trastorno ocular caracterizado por daño del nervio óptico (p. ej., degeneración del nervio óptico), tal como glaucoma.
- Otra enfermedad respiratoria crónica desvelada es el asma. Puede encontrarse información acerca de factores de riesgo, epidemiología, patogenia, diagnóstico, tratamiento actual del asma, etc., p. ej., en "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma". Instituto Nacional del Corazón, el Pulmón y la Sangre. 2007. <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthgdln.pdf>. ("NHLBI Guidelines"; www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthgdln.htm), Global Initiative for Asthma, Global Strategy for Asthma

Management and Prevention 2010 "Informe GINA") y/o libros de texto convencionales de medicina interna tales como el Cecil Textbook of Medicine (20^a edición), Harrison's Principles of Internal Medicine (17^a edición) y/o libros de texto convencionales centrados en la medicina pulmonar. El asma es un trastorno inflamatorio crónico de las vías respiratorias en el que muchas células y elementos celulares desempeñan una función, tales como, mastocitos, eosinófilos, linfocitos T, macrófagos, neutrófilos y células epiteliales. Los individuos asmáticos experimentan episodios recurrentes asociados con síntomas tales como sibilancia, disnea (también denominada falta de aliento), opresión en el pecho y tos. Estos episodios están asociados habitualmente con obstrucción generalizada pero variable del flujo de aire que con frecuencia es reversible, ya sea espontáneamente o con tratamiento. La inflamación también provoca un aumento asociado en la hiperreactividad bronquial existente a diversos estímulos. La hiperreactividad de las vías

- 5 respiratorias (una respuesta broncoconstrictora exagerada a los estímulos) es una característica típica del asma. En general, la limitación del flujo de aire resulta de la broncoconstricción y el edema de las vías respiratorias. La reversibilidad de la limitación del flujo de aire puede ser incompleta en algunos pacientes con asma. Por ejemplo, la remodelación de las vías respiratorias puede conducir a un estrechamiento fijo de las vías respiratorias. Los cambios estructurales pueden incluir engrosamiento de la membrana subbasal, fibrosis subepitelial, hipertrofia e hiperplasia del 10 músculo liso de las vías respiratorias, proliferación y dilatación de los vasos sanguíneos e hiperplasia de las glándulas mucosas e hipersecreción.
- 15

Los individuos con asma pueden experimentar agravamientos, que se identifican como acontecimientos caracterizados por un cambio del estado anterior del individuo. Los agravamientos graves del asma se pueden definir 20 como acontecimientos que requieren una acción urgente por parte del individuo y su médico para evitar un resultado grave, tal como hospitalización o muerte por asma. Por ejemplo, un agravamiento grave del asma puede requerir uso de corticoesteroides sistémicos (p. ej., corticoesteroides orales) en un sujeto cuya asma está habitualmente bien controlado sin CEO o puede requerir un aumento de una dosis de mantenimiento estable. Los agravamientos moderados del asma pueden definirse como acontecimientos que son problemáticos para el sujeto y que provocan la necesidad de un cambio en el tratamiento, pero que no son graves. Estos acontecimientos se identifican clínicamente 25 por estar fuera del intervalo habitual de variación de asma diaria del sujeto.

30 Los medicamentos actuales para el asma se clasifican normalmente en dos clases generales: medicamentos de control a largo plazo ("medicamentos controladores") tales como corticoesteroides inhalados (CEI), corticoesteroides orales (CEO), broncodilatadores de acción prolongada (BAAP), modificadores de leucotrienos (p. ej., antagonistas de receptores de leucotrienos o inhibidores de la síntesis de leucotrienos, anticuerpos anti-IgE (omalizumab (Xolair®)), cromoglicato y nedocromilo, que se usan para lograr y mantener el control del asma persistente y medicamentos de alivio rápido, tales como broncodilatadores de acción corta (BAAC), que se usan para tratar síntomas agudos y agravamientos. Para fines de la presente invención, estos tratamientos pueden denominarse "terapia convencional".

35

35 El tratamiento de los agravamientos también puede incluir aumentar la dosis y/o intensidad de la terapia con medicamentos controladores. Por ejemplo, se puede usar una tanda de CEO para recuperar el control del asma. Las pautas actuales exigen la administración diaria de medicamentos controladores o, en muchos casos, la administración de múltiples dosis de medicamentos controladores cada día para sujetos con asma persistente (con la excepción de Xolair, que se administra cada 2 o 4 semanas).

- 40
- 40 En general, se considera que un sujeto tiene asma persistente si el sujeto padece síntomas en promedio más de dos veces por semana y/o normalmente usa un medicamento de alivio rápido (p. ej., BAAC) más de dos veces por semana para el control de los síntomas. La "gravedad del asma" puede clasificarse en función de la intensidad del tratamiento necesario para controlar el asma del sujeto una vez que se han tratado las comorbilidades relevantes y se han 45 optimizado la técnica del inhalador y la adherencia (véase, p. ej., Informe GINA; Taylor, DR, Eur Respir J 2008; 32: 545-554). La descripción de la intensidad del tratamiento se puede basar en los medicamentos y las dosis recomendadas en el algoritmo de tratamiento escalonado que se encuentra en pautas tales como NHLBI Guidelines 2007, Informe GINA y sus predecesores y/o en libros de texto médicos convencionales. Por ejemplo, el asma puede 50 clasificarse como intermitente, leve, moderado o grave como se indica en la tabla X, donde "tratamiento" se refiere al tratamiento suficiente para lograr el mejor nivel de control del asma del sujeto. (Se entenderá que las categorías de asma leve, moderada y grave en general implican asma persistente en lugar de intermitente). Un experto habitual en la materia apreciará que la tabla X es ilustrativa y que no todos estos medicamentos estarán disponibles en todos los sistemas de atención sanitaria, lo que puede afectar la evaluación de la gravedad del asma en algunos entornos. 55 También se apreciará que otros enfoques emergentes o nuevos pueden afectar a la clasificación del asma leve/moderada. Sin embargo, el mismo principio, de asma leve que se define por la capacidad de lograr un buen control usando tratamiento de muy baja intensidad y asma grave que se define por el requisito de tratamiento de alta intensidad, todavía se puede aplicar. La gravedad del asma se puede clasificar, además, o como alternativa, en función de la intensidad intrínseca de la enfermedad en ausencia de tratamiento (véase, p. ej., NHBLI Guidelines 2007). La evaluación puede realizarse basándose en la espirometría actual y el recuerdo del paciente de los síntomas durante 60 las 2-4 semanas anteriores. Los parámetros de deterioro actual y riesgo futuro pueden evaluarse e incluirse en una determinación del nivel de gravedad del asma. La gravedad del asma se puede definir como se muestra en la figura 3.4(a), 3.4(b), 3.4(c) de las NHBLI Guidelines, para individuos de 0-4, 5-11 o \geq 12 años de edad, respectivamente.

Tabla X: Clasificación del asma basada en el tratamiento

Clasificación del asma	Tratamiento
Intermitente	BAAC según sea necesario (normalmente no más de dos veces por semana)
Leve	Dosis baja de CEI u otro tratamiento de baja intensidad (p. ej., ARLT, cromoglicato, nedocromilo, teofilina)
Moderada	Dosis de baja a moderada de CEI y BAAP u otro tratamiento adicional
Grave	Tratamiento de alta intensidad (dosis altas de CEI y BAAP ± corticoesteroides orales y/u otro tratamiento adicional)

El "control del asma" se refiere a la medida en que las manifestaciones del asma se han reducido o eliminado mediante tratamiento (ya sea farmacológico o no farmacológico). El control del asma se puede evaluar en función de factores tales como la frecuencia de los síntomas, síntomas nocturnos, medidas objetivas de la función pulmonar, tales como parámetros de espirometría (p. ej., % VEF₁ del predicho, variabilidad de VEF₁, necesidad de uso de BAAC para el control de los síntomas. Los parámetros de deterioro actual y riesgo futuro pueden evaluarse e incluirse en una determinación del nivel de control del asma. El control del asma se puede definir como se muestra en la figura 4.3(a), 4.3(b) o 4.3(c) de las NHBLI Guidelines, para individuos de 0-4, 5-11 o ≥ 12 años de edad, respectivamente.

5 El "control del asma" se refiere a la medida en que las manifestaciones del asma se han reducido o eliminado mediante tratamiento (ya sea farmacológico o no farmacológico). El control del asma se puede evaluar en función de factores tales como la frecuencia de los síntomas, síntomas nocturnos, medidas objetivas de la función pulmonar, tales como parámetros de espirometría (p. ej., % VEF₁ del predicho, variabilidad de VEF₁, necesidad de uso de BAAC para el control de los síntomas. Los parámetros de deterioro actual y riesgo futuro pueden evaluarse e incluirse en una determinación del nivel de control del asma. El control del asma se puede definir como se muestra en la figura 4.3(a), 4.3(b) o 4.3(c) de las NHBLI Guidelines, para individuos de 0-4, 5-11 o ≥ 12 años de edad, respectivamente.

10 En general, un experto habitual en la materia puede seleccionar un medio adecuado para determinar el nivel de gravedad del asma y/o el grado de control, y se puede usar cualquier esquema de clasificación que los expertos habituales en la materia consideren razonable.

15 En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento para su uso en el tratamiento del asma persistente en un sujeto que lo necesite. El sujeto puede padecer asma leve o moderada. El sujeto puede padecer asma grave. Un sujeto puede tener asma que no está bien controlada usando terapia convencional. Un sujeto puede tener asma que, cuando se trata usando terapia convencional, requiere el uso de CEI para estar bien controlada. Un sujeto puede tener asma que no se controla bien a pesar del uso de CEI. Un sujeto puede tener asma que, si se trata usando terapia convencional, requeriría el uso de CEO para estar bien controlada. Un sujeto puede tener asma que no se controla bien a pesar del uso de terapia convencional de alta intensidad que incluye CEO. Se puede administrar un inhibidor del complemento de acción prolongada como medicamento controlador o para permitir que el sujeto evite usar o reducir su dosis de un medicamento controlador convencional.

20 En el presente documento se desvela un inhibidor del complemento para su uso en el tratamiento del asma persistente en un sujeto que lo necesite. El sujeto puede padecer asma leve o moderada. El sujeto puede padecer asma grave. Un sujeto puede tener asma que no está bien controlada usando terapia convencional. Un sujeto puede tener asma que, cuando se trata usando terapia convencional, requiere el uso de CEI para estar bien controlada. Un sujeto puede tener asma que no se controla bien a pesar del uso de terapia convencional de alta intensidad que incluye CEO. Se puede administrar un inhibidor del complemento de acción prolongada como medicamento controlador o para permitir que el sujeto evite usar o reducir su dosis de un medicamento controlador convencional.

25 El sujeto puede padecer asma alérgica, que es el caso de la mayoría de los individuos asmáticos. Se puede considerar que un sujeto asmático tiene asma alérgica si un desencadenante no alérgico del asma (p. ej., frío, ejercicio) se desconoce y/o no se identifica en una evaluación de diagnóstico convencional. Se puede considerar que un sujeto asmático tiene asma alérgica si el sujeto (i) desarrolla de manera reproducible síntomas de asma (o empeoramiento de síntomas de asma) después de la exposición a un alérgeno o alérgenos a los que el sujeto es sensible; (ii) presenta IgE específica para un alérgeno o alérgenos a los que el sujeto es sensible; (iii) presenta una prueba de punción cutánea positiva a un alérgeno o alérgenos a los que el sujeto es sensible; y/o (iv) presenta otro(s) síntoma(s) de característica(s) compatibles con la atopía tales como rinitis alérgica, ecema o IgE total en suero elevada. Se apreciará que un desencadenante alérgico específico puede no identificarse, pero puede sospecharse o inferirse si el sujeto experimenta empeoramiento de los síntomas en ambientes particulares, por ejemplo.

30 El sujeto puede padecer asma alérgica, que es el caso de la mayoría de los individuos asmáticos. Se puede considerar que un sujeto asmático tiene asma alérgica si un desencadenante no alérgico del asma (p. ej., frío, ejercicio) se desconoce y/o no se identifica en una evaluación de diagnóstico convencional. Se puede considerar que un sujeto asmático tiene asma alérgica si el sujeto (i) desarrolla de manera reproducible síntomas de asma (o empeoramiento de síntomas de asma) después de la exposición a un alérgeno o alérgenos a los que el sujeto es sensible; (ii) presenta IgE específica para un alérgeno o alérgenos a los que el sujeto es sensible; (iii) presenta una prueba de punción cutánea positiva a un alérgeno o alérgenos a los que el sujeto es sensible; y/o (iv) presenta otro(s) síntoma(s) de característica(s) compatibles con la atopía tales como rinitis alérgica, ecema o IgE total en suero elevada. Se apreciará que un desencadenante alérgico específico puede no identificarse, pero puede sospecharse o inferirse si el sujeto experimenta empeoramiento de los síntomas en ambientes particulares, por ejemplo.

35 La exposición a alérgenos por inhalación es una técnica que se usa ampliamente en la evaluación de enfermedades alérgicas de las vías respiratorias. La inhalación del alérgeno conduce a la reticulación de IgE específica de alérgeno unida a receptores de IgE en, p. ej., mastocitos y basófilos. A continuación, se produce activación de rutas secretoras, lo que da como resultado la liberación de mediadores de la broncoconstricción y la permeabilidad vascular. Los individuos con asma alérgica pueden desarrollar diversas manifestaciones después de la exposición a alérgenos, p. ej., respuesta asmática temprana (RAE), respuesta asmática tardía (RAT), hiperreactividad de las vías respiratorias (HRVR) y eosinofilia de las vías respiratorias, cada una de las cuales puede detectarse y cuantificarse como se conoce en la técnica. Por ejemplo, puede detectarse eosinofilia de las vías respiratorias como un aumento de los eosinófilos en el esputo y/o el líquido del lavado broncoalveolar. La RAE, en ocasiones denominada respuesta asmática inmediata (RAI), es una respuesta a la exposición a alérgeno por inhalación que se vuelve detectable poco después de la inhalación, normalmente en un periodo de 10 minutos (min) desde la inhalación, p. ej., como una disminución del VEF₁. La RAE alcanza normalmente un máximo en 30 minutos y se resuelve en 2-3 horas (h) después de la exposición. Por ejemplo, se puede considerar que un sujeto presenta una RAE "positiva" si su VEF₁ disminuye en al menos 15 %, p. ej., al menos 20 %, dentro de esta ventana temporal en relación con el VEF₁ basal (donde "basal" en este contexto se refiere a las condiciones antes de la exposición, p. ej., condiciones equivalentes a la condición habitual del sujeto cuando no experimenta un agravamiento del asma y no se expone a estímulos alérgicos a los que el sujeto es sensible). La respuesta asmática tardía (RAT) normalmente comienza entre 3 h y 8 h después de la exposición y se caracteriza por inflamación celular de las vías respiratorias, aumento de la permeabilidad broncovascular y secreción de moco. Normalmente, se detecta como una disminución del VEF₁, que puede ser mayor en magnitud que la asociada con la RAE y potencialmente más importante desde el punto de vista clínico. Por ejemplo, se puede considerar que un sujeto presenta una RAT "positiva" si su VEF₁ disminuye en al menos 15 %, p. ej., al menos 20 %, en relación con el VEF₁ basal dentro del periodo de tiempo relevante en comparación con el VEF₁ basal. Puede producirse una respuesta retardada de las vías respiratorias (RRVR) que comienza entre aproximadamente 26 y 32 h, alcanzando un

máximo entre aproximadamente 32 y 48 h y resolviéndose en un periodo de aproximadamente 56 h después de la exposición (Pelikan, Z. Ann Allergy Asthma Immunol. 2010, 104 (5): 394-404).

5 Otro trastorno respiratorio crónico desvelado es enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). La EPOC abarca un espectro de afecciones caracterizadas por la limitación del flujo de aire que no es completamente reversible incluso con terapia y habitualmente es progresiva. Los síntomas de la EPOC incluyen disnea (falta de aliento), disminución de la tolerancia al ejercicio, tos, producción de esputo, sibilancias y opresión en el pecho. Las personas con EPOC pueden experimentar episodios de empeoramiento agudo (p. ej., que se desarrolla en el transcurso de menos de una semana y, con frecuencia, en el transcurso de 24 horas o menos) de los síntomas (denominados agravamientos de la EPOC) que pueden variar en su frecuencia y duración y se asocian con morbilidad. Pueden desencadenarse por acontecimientos tales como infección respiratoria, exposición a partículas nocivas o pueden tener una etiología desconocida. Fumar es el factor de riesgo más habitual para la EPOC y otras exposiciones por inhalación también pueden contribuir al desarrollo y la progresión de la enfermedad. El papel de los factores genéticos en la EPOC es un área de investigación activa. Un pequeño porcentaje de pacientes con EPOC tienen una deficiencia hereditaria de 10 antitripsina alfa-1, un importante inhibidor circulante de las serina proteasas, y esta deficiencia puede conducir a una 15 forma rápidamente progresiva de la enfermedad.

20 Los elementos fisiopatológicos característicos de la EPOC incluyen estrechamiento y cambios estructurales en las vías respiratorias pequeñas y destrucción del parénquima pulmonar (en particular alrededor de los alvéolos), más habitualmente debido a inflamación crónica. La limitación crónica del flujo de aire observada en la EPOC normalmente implica una mezcla de estos factores y su importancia relativa para contribuir a la limitación del flujo de aire y los 25 síntomas varía entre personas. El término "enfisema" se refiere a la dilatación de los espacios aéreos (alvéolos) distales a los bronquiolos terminales, con destrucción de sus paredes. Debería observarse que el término "enfisema" se usa con frecuencia clínicamente para hacer referencia a la afección médica asociada con dichos cambios 30 patológicos. Algunos individuos con EPOC tienen bronquitis crónica, que se define en términos clínicos como una tos con producción de esputo la mayoría de los días durante 3 meses al año, durante 2 años consecutivos. Puede encontrarse más información con respecto a factores de riesgo, epidemiología, patogenia, diagnóstico y tratamiento 35 actual de la EPOC, p. ej., en "Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease" (actualizado en 2009) disponible en el sitio web de la Iniciativa global para la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, Inc. (GOLD) (www.goldcopd.org), también denominado en el presente documento "informe GOLD", las Directrices de la Sociedad Torácica Estadounidense/Sociedad Respiratoria Europea (2004) disponibles en el sitio web de la ATS en www.thoracic.org/clinical/copd-guidelines/resources/copddoc.pdf, denominadas en el presente documento "directrices de EPOC ATC/ERS" y libros de texto convencionales de medicina interna, tales como Cecil Textbook of Medicine (20ª edición), Harrison's Principles of Internal Medicine (17ª edición) y/o libros de texto convencionales centrados en la medicina pulmonar.

40 Los usos desvelados en el presente documento pueden inhibir (interferir con, interrumpir) el ciclo de DC-Th17-B-Ab-C-DC analizado anteriormente. Por ejemplo, la administración de un inhibidor del complemento puede romper el ciclo por el que el complemento estimula células DC para promover el fenotipo Th17. Como resultado, el número y/o la actividad de los linfocitos Th17 disminuye, lo que a su vez reduce la cantidad de estimulación mediada por Th17 de linfocitos B y la producción de anticuerpos policlonales. Estos efectos pueden dar como resultado el "restablecimiento" 45 el microambiente inmunológico a un estado más normal, menos patológico. Como se describe en el ejemplo 1 del documento PCT/US2012/043845 (WO/2012/178083) y en el documento USSN 20140371133 (resumido brevemente más adelante en el presente documento en el ejemplo 27), se han obtenido pruebas que respaldan la capacidad de la inhibición del complemento para tener un efecto inhibidor prolongado sobre la producción de citocinas asociadas a Th17 en un modelo animal de asma.

50 La inhibición del ciclo de DC-Th17-B-Ab-C-DC puede tener un efecto modificador de la enfermedad. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, en lugar de simplemente tratar los síntomas de un trastorno, la inhibición del ciclo de DC-Th17-B-Ab-C-DC puede interferir con los mecanismos patológicos fundamentales que pueden contribuir al daño tisular continuado incluso cuando los síntomas están bien controlados y/o pueden contribuir a agravamientos de la enfermedad. La inhibición del ciclo de DC-Th17-B-Ab-C-DC puede provocar que un trastorno crónico entre en remisión. La remisión puede referirse a un estado de ausencia o ausencia sustancial de actividad de la enfermedad en un sujeto con un trastorno crónico, con posibilidad de retorno de la enfermedad. La remisión puede mantenerse 55 durante un periodo prolongado de tiempo (p. ej., al menos 6 meses, p. ej., 6-12 meses, 12-24 meses o más) en ausencia de terapia continua o con una dosis reducida o un intervalo de dosificación aumentado. La inhibición del complemento puede cambiar el microambiente inmunológico de un tejido que es rico en linfocitos Th17 y modificarlo en un microambiente que es rico en linfocitos T reguladores (Treg). Hacerlo podría permitir que el sistema inmunitario se "reinicie" y entre en un estado de remisión. Por ejemplo, la remisión puede mantenerse hasta la aparición de un 60 acontecimiento desencadenante. Un acontecimiento desencadenante puede ser, por ejemplo, una infección (que puede dar como resultado la producción de anticuerpos policlonales que reaccionan tanto con un agente infeccioso como con una proteína propia), exposición a condiciones ambientales particulares (p. ej., altos niveles de contaminantes atmosféricos tales como ozono o materia en partículas o componentes del humo tal como humo de cigarrillos, alérgenos), etc. Los factores genéticos pueden desempeñar un papel. Por ejemplo, los individuos que tienen 65 alelos particulares de genes que codifican componentes del complemento pueden tener un nivel basal mayor de actividad del complemento, un sistema del complemento más reactivo y/o un nivel basal menor de actividad proteica

reguladora del complemento endógena. Un individuo puede tener un genotipo asociado con mayor riesgo de DMAE. Por ejemplo, el sujeto puede tener un polimorfismo en un gen que codifica una proteína del complemento o una proteína reguladora del complemento, p. ej., FHC, C3, factor B, en donde el polimorfismo está asociado con un mayor riesgo de DMAE.

5 Un microambiente inmunológico puede volverse progresivamente más polarizado hacia un estado patológico con el tiempo, p. ej., en un sujeto que aún no ha desarrollado síntomas de un trastorno crónico o en un sujeto que ha desarrollado el trastorno y se ha tratado como se describe en el presente documento. Dicha transición puede producirse de manera estocástica (p. ej., debido al menos en parte a fluctuaciones aparentemente aleatorias en los 10 niveles y/o afinidad de anticuerpos) y/o como resultado de acontecimientos desencadenantes acumulados "por debajo del umbral" que no son de intensidad suficiente para desencadenar un brote sintomático de un trastorno.

15 Se contempla que una tanda relativamente corta de un análogo de compstatina de acción prolongada, p. ej., entre 1 semana y 6 semanas, p. ej., aproximadamente 2-4 semanas, puede proporcionar un beneficio duradero. Se puede lograr una remisión durante un periodo prolongado de tiempo, p. ej., 1-3 meses, 3-6 meses, 6-12 meses, 12-24 meses o más. Un sujeto puede supervisarse y/o tratarse de manera profiláctica antes de la reaparición de los síntomas. Por ejemplo, un sujeto puede tratarse antes o después de la exposición a un acontecimiento desencadenante. Un sujeto puede supervisarse, p. ej., para determinar un aumento de un biomarcador, p. ej., un biomarcador que comprende un indicador de linfocitos Th17 o actividad de linfocitos Th17, o activación del complemento, y puede tratarse tras 20 aumentar el nivel de dicho biomarcador. Véase, p. ej., documento PCT/US2012/043845 para análisis adicional.

VIII. Composiciones y administración

25 El análogo de compstatina de acción prolongada para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento de acuerdo con la invención puede administrarse en diversas composiciones.

30 Las composiciones desveladas en el presente documento pueden comprender un análogo de compstatina purificado reactivo con células, de acción prolongada o dirigido. Se puede lograr purificación usando diversos enfoques que pueden ser seleccionados por un experto habitual en la materia basándose en lograr un grado deseado de pureza con respecto a diversos componentes presentes en la composición antes de la purificación. Por ejemplo, se pueden usar filtración, cromatografía líquida de alto rendimiento, cromatografía de afinidad y/u otros enfoques y combinaciones de los mismos. La composición puede comprender al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 %, o más de análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido como porcentaje del análogo de compstatina total en peso. La composición puede comprender al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o más de análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido como porcentaje del análogo de compstatina total en molaridad. Una composición puede consistir o consiste esencialmente en el análogo de compstatina.

40 Una composición que comprende un análogo de compstatina reactivo con células y un compuesto que comprende un grupo funcional reactivo con células puede caracterizarse por que la relación del análogo de compstatina reactivo con células con respecto al compuesto que comprende el grupo funcional reactivo con células en molaridad es de al menos 10:1, 20:1, 50:1, 100:1, 500:1, 1.000:1 o más. La composición puede comprender al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o más de análogo de compstatina reactivo con células como porcentaje del análogo de compstatina total en peso. La composición puede comprender al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o más de análogo de compstatina reactivo con células como porcentaje del análogo de compstatina total en molaridad. Una composición puede comprender al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o más de análogo de compstatina reactivo con células en peso. Una composición puede comprender al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o más de análogo de compstatina de acción prolongada en peso. Una composición puede comprender al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o más de análogo de compstatina dirigido en peso. Una composición puede comprender al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o más de análogo de compstatina dirigido en peso. Peso puede ser peso seco.

50 55 En el presente documento se desvela una composición de uso farmacéutico que comprende un análogo de compstatina como se define en el presente documento. La composición de uso farmacéutico puede tener cualquiera de las características mencionadas anteriormente con respecto a pureza. La composición de uso farmacéutico está suficientemente exenta de endotoxina, metales pesados y sustancias no identificadas y/o no caracterizadas para que sea aceptable, sin purificación adicional, como composición farmacéutica adecuada para su administración a un sujeto humano o para la fabricación de una composición farmacéutica para administrar a un sujeto humano. La composición de uso farmacéutico puede estar estéril.

60 65 Las preparaciones adecuadas, p. ej., preparaciones sustancialmente puras de un análogo de compstatina como se define en el presente documento, pueden combinarse con transportadores o vehículos farmacéuticamente aceptables, etc., para producir una composición farmacéutica adecuada. La expresión "transportador o vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un transportador o vehículo no tóxico que no destruye la actividad farmacológica del compuesto con el que se formula. Un experto en la materia entenderá que un transportador o vehículo es "no tóxico" si es compatible con la administración a un sujeto en una cantidad adecuada para administrar el compuesto sin provocar toxicidad indebida. Los transportadores o vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, pero sin limitación, agua,

- solución salina fisiológica, solución de Ringer, solución de acetato de sodio o acetato de potasio, dextrosa al 5 % y similares. La composición puede incluir otros componentes según sea adecuado para la formulación deseada, p. ej., como se analiza en el presente documento. También se pueden incorporar en las composiciones compuestos activos complementarios, p. ej., compuestos útiles de manera independiente para tratar a un sujeto que padece un trastorno mediado por el complemento. Dichas composiciones farmacéuticas pueden comprender un análogo de compstatina como se define en el presente documento y, opcionalmente, un segundo agente activo útil para tratar a un sujeto que padece un trastorno mediado por el complemento.
- En el presente documento se desvela una composición farmacéuticamente aceptable adecuada para su administración a seres humanos, envasada junto con una etiqueta aprobada por una agencia gubernamental responsable de regular los agentes farmacéuticos, p. ej., la Administración de Fármacos y Alimentos de los Estados Unidos. También se desvela un equipo o envase farmacéutico que comprende: (a) un análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido farmacéuticamente aceptable en forma sólida; (b) un transportador o vehículo farmacéuticamente aceptable. La forma sólida puede ser una forma liofilizada. La forma sólida puede ser una forma de polvo, p. ej., un polvo liofilizado. Opcionalmente, el equipo o envase contiene instrucciones para disolver el análogo de compstatina reactivo con células, de acción prolongada o dirigido en el transportador. También se proporciona un equipo o envase farmacéutico. El envase o equipo puede comprender suficiente cantidad de composición farmacéutica para al menos 1 dosis, p. ej., entre 1 y 200 dosis o cualquier número o subintervalo intermedio. Un envase o equipo puede comprender (i) un primer recipiente que contiene suficiente análogo de compstatina como se define en el presente documento para una o más dosis; (ii) un segundo recipiente que comprende un transportador farmacéuticamente aceptable para combinarlo con el contenido del primer recipiente para producir una composición adecuada para su administración a un sujeto mediante, p. ej., inyección subcutánea (abreviada como SC o s.c.) o intravítreo (IVT). Un envase o equipo farmacéutico puede comprender una o más agujas y, opcionalmente, una o más jeringas. Puede proporcionarse al menos una jeringa precargada (p. ej., entre 1 y 200 o cualquier número o subintervalo intermedio). Pueden proporcionarse una o más formas farmacéuticas unitarias o alícuotas previamente medidas. Pueden proporcionarse uno o más bolígrafos o cartuchos de bolígrafo. Pueden proporcionarse instrucciones para la administración, p. ej., autoadministración, p. ej., a través de inyección subcutánea.
- En el presente documento se proporciona un análogo de compstatina de acción prolongada como se define en el presente documento para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento que es DMAE, opcionalmente atrofia geográfica o DMAE intermedia, mediante la administración intravítreo del análogo de compstatina a un ojo de un sujeto que lo necesite. Se entenderá que "administración" abarca administrar directamente un compuesto o una composición a un sujeto, instruir a un tercero para que administre un compuesto o una composición a un sujeto, recetar o sugerir un compuesto o una composición a un sujeto (p. ej., para autoadministración), autoadministración y, según sea adecuado, otros medios para poner un compuesto o una composición a disposición de un sujeto.
- Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable (p. ej., administración intravenosa) o mediante bomba o catéter incluyen normalmente soluciones acuosas estériles (cuando sean hidrosolubles) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Se pueden preparar soluciones estériles incorporando el compuesto en la cantidad necesaria en un disolvente adecuado, opcionalmente con uno o una combinación de ingredientes tales como tampones tales como acetatos, citratos, lactatos o fosfatos; agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa; agentes antibacterianos, tales como alcohol benílico o metil parabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico, glutatión o bisulfito de sodio; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminotetraacético; y otros ingredientes adecuados, etc., según se deseé, seguido de esterilización basada en filtro. Un experto en la materia será consciente de numerosos compuestos fisiológicamente aceptables que pueden incluirse en una composición farmacéutica. Otros compuestos útiles incluyen, por ejemplo, hidratos de carbono, tales como glucosa, sacarosa, lactosa; dextranos; aminoácidos tales como glicina; polioles tales como manitol. Estos compuestos pueden, por ejemplo, actuar como agentes de carga y/o estabilizadores, p. ej., en un polvo y/o cuando parte del proceso de fabricación o almacenamiento implique liofilización. Pueden incluirse en una composición tensioactivo(s) tal(es) como Tween-80, Pluronic-F108/F68, ácido desoxicólico, fosfatidilcolina, etc., p. ej., para aumentar la solubilidad o para proporcionar microemulsión para administrar fármacos hidrófobos. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, si se desea. La preparación parenteral puede estar contenida en ampollas, jeringas desechables o bolsas de infusión o viales monodosis o multidosis de vidrio o plástico. Preferentemente, las soluciones para inyección son estériles y aceptablemente exentas de endotoxina.
- La inyección subcutánea y/o intramuscular puede ser particularmente deseable para la administración de un análogo de compstatina como se describe en el presente documento (p. ej., un ACAP) en ciertos contextos. Por ejemplo, puede preferirse la administración subcutánea y/o intramuscular (en relación, por ejemplo, con la administración intravenosa) en particular para el tratamiento de trastornos crónicos. Como alternativa o además, la inyección subcutánea y/o intramuscular puede ser particularmente útil cuando, por ejemplo, será deseable y/o esperable que los pacientes se autoadministren una composición de análogo de compstatina (por ejemplo, en lugar de necesitar o basarse en la administración por un profesional sanitario, particularmente cuando dicha administración por un profesional sanitario pueda requerir desplazarse a un centro de infusión).

- La presente divulgación abarca la perspectiva de que, cuando se administra un fármaco a diario, puede ser factible mantener una concentración sanguínea más constante que con un intervalo de dosificación más largo, tal como semanalmente o cada 2 semanas. Puede ser deseable una concentración sanguínea más constante, particularmente en el tratamiento de un trastorno crónico como se describe en el presente documento. La presente divulgación aprecia que la infusión i.v. diaria a largo plazo puede ser altamente inconveniente, particularmente para un paciente no hospitalizado.
- La presente divulgación aprecia particularmente que la administración subcutánea puede ser incluso más eficaz y/o deseable que la inyección intramuscular, particularmente cuando se espera o desea la autoadministración.
- Una composición como se describe en el presente documento, y particularmente una composición que comprende un ACAP, puede administrarse utilizando un dispositivo que administra una dosis de una composición farmacéutica mediante inyección, en ocasiones de una manera al menos parcialmente automatizada tras la activación. Dicho dispositivo se denomina en la técnica "bolígrafo" o "autoinyector" y estos términos se usan indistintamente en el presente documento. En general, un bolígrafo o autoinyector permite la inyección de una dosis de una composición farmacéutica contenida en un cartucho, depósito o jeringa mediante una aguja hipodérmica que se inserta de manera manual o automática o mediante un chorro a alta velocidad. Puede estar diseñado para la administración de una única dosis o de múltiples dosis.
- Un bolígrafo o autoinyector puede utilizarse para la inyección intramuscular y/o subcutánea. Un bolígrafo u otro autoinyector puede ser particularmente útil para la inyección subcutánea. Los bolígrafos son normalmente dispositivos que contienen (o que pueden cargarse con) un medicamento en un cartucho o depósito contenido en el interior y al que puede acoplarse una aguja.
- Como se indica en el presente documento, la presente divulgación proporciona la perspectiva de que la inyección SC y/o IM puede ser un modo de administración particularmente deseable para uno o más ACAP como se describen en el presente documento. Por ejemplo, en el presente documento se desvelan regímenes de dosificación que implican la administración de un ACAP mediante inyección (p. ej., mediante inyección SC), en donde dicha inyección se logra mediante el uso de un bolígrafo (p. ej., que puede haberse precargado con una dosis o volumen adecuado). Los bolígrafos pueden ser duraderos (y reutilizables) o desechables. Un bolígrafo duradero utiliza típicamente un cartucho reemplazable, que se desecha cuando está vacío y se inserta uno nuevo en el bolígrafo. Un bolígrafo desechable típicamente viene precargado con un medicamento en un cartucho o depósito. Cuando el cartucho o el depósito se vacía, se desecha el bolígrafo. El cartucho o depósito puede contener una sola dosis o múltiples dosis. Para utilizar un bolígrafo, se acopla una aguja al bolígrafo y se inserta en la piel. Normalmente, se pulsa un botón para administrar una dosis, aunque pueden utilizarse otros métodos de activación. Un autoinyector puede comprender una jeringa accionada por resorte, aunque un experto habitual en la materia apreciará que hay disponibles diversas tecnologías para proporcionar la administración automática. Al pulsar un botón o activar el dispositivo de otro modo, la aguja se inserta automáticamente y se administra el medicamento. Un autoinyector puede estar diseñado para insertar la aguja automáticamente y/o con precisión hasta una profundidad deseada en el tejido subcutáneo. Un bolígrafo o autoinyector puede comprender medios, tales como un dial que permite al usuario seleccionar o ajustar la dosis o la profundidad de inyección.
- Una composición como se describe en el presente documento y particularmente una composición que comprende un ACAP, puede administrarse utilizando un dispositivo que comprende una jeringa de doble cámara. El fármaco seco (p. ej., liofilizado) está contenido en una cámara. La segunda cámara contiene un transportador farmacéuticamente aceptable. Para utilizar el dispositivo, el fármaco se reconstituye en primer lugar mezclando el contenido de las cámaras. Esto puede lograrse de varias maneras. Accionar el émbolo puede hacer que el contenido de las cámaras se mezcle, p. ej., transfiriendo el transportador a la cámara que contiene el fármaco liofilizado.
- Por tanto, se divultan diversos dispositivos para el suministro de fármacos que comprenden una composición como se describe en el presente documento (p. ej., que comprende un ACAP), p. ej., jeringas precargadas, jeringas de doble cámara, bolígrafos duraderos y/o desechables, y cartuchos adecuados para su uso con un bolígrafo. Dichos dispositivos pueden contener una o más dosis (p. ej., una o más de cualquiera de las cantidades de dosis descritas en el presente documento).
- La presente divulgación contempla proporcionar a un sujeto (p. ej., por correo postal o recogida organizada u otro modo de entrega regular) una serie de dispositivos como se describen en el presente documento que juntos proporcionan un suministro de agente activo (p. ej., ACAP) suficiente para que tenga una duración predeterminada (p. ej., una semana, dos semanas, tres semanas, cuatro semanas, etc.). Dicho conjunto puede enviarse al domicilio de un paciente de manera regular (p. ej., cada semana, dos semanas, tres semanas, cuatro semanas, etc.) con una programación seleccionada de tal modo que el paciente no se quede sin suministros. Una composición (p. ej., ACAP) puede estar contenida en un recipiente (p. ej., un vial) o en cualquiera de los dispositivos o paquetes de suministro de fármaco anteriormente mencionados.
- La composición puede liofilizarse o mantenerse refrigerada o congelada hasta poco antes de la administración, momento en el cual se reconstituye (si está liofilizada) o se descongela (si está congelada). La composición puede

ponerse a temperatura ambiente antes de la administración.

Una composición puede administrarse usando un sistema de parche (p. ej., para administración subcutánea o transdérmica). El parche puede comprender o estar unido a un depósito que puede contener, p. ej., hasta aproximadamente 10 ml de solución, lo que permite la administración de 10 ml de solución a un paciente en una única administración.

Una composición que comprende un análogo de compstatina descrito en el presente documento y un transportador farmacéuticamente aceptable puede tener un pH de entre 6,5 y 7,5, p. ej., entre 6,8 y 7,2, p. ej., 7,0. Durante la realización de los estudios de estabilidad, se observó que un menor pH da como resultado una estabilidad aumentada de determinados ACAP en relación con un pH neutro. Por consiguiente, una composición que comprende un ACAP y un transportador farmacéuticamente aceptable puede tener un pH de entre 6,0 y 6,5, entre 5,5 y 6,0, o entre 5,0 y 5,5. Puede usarse un pH aún más bajo, p. ej., entre 4,5 y 5,0. La composición puede comprender además una o más sustancias tamponadoras farmacéuticamente aceptables adecuadas para mantener el pH dentro de un intervalo seleccionado (p. ej., cualquiera de los intervalos anteriormente mencionados). En el presente documento se describen sustancias tamponadoras adecuadas (p. ej., acetatos, citratos, lactatos o fosfatos). Como alternativa o además, la composición puede comprender una sal, p. ej., cualquiera de las sales farmacéuticamente aceptables descritas en el presente documento. La composición puede comprender un fosfato.

En general, se preparan dispersiones incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y otros ingredientes adecuados de entre los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación pueden incluir secado al vacío y liofilización que produce un polvo del principio activo más cualquier ingrediente adicional deseado, p. ej., de una solución previamente esterilizada por filtración del mismo.

Se desvela la administración oral. Las composiciones orales incluyen en general un diluyente inerte o un transportador comestible. Con el fin de la administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y usarse en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas, p. ej., cápsulas de gelatina. Pueden incluirse como parte de la composición agentes aglutinantes y/o materiales adyuvantes farmacéuticamente compatibles. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante, tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente, tal como almidón o lactosa, un agente disgregante, tal como ácido algínico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante, tal como estearato de magnesio o Sterotes; un emoliente, tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante, tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja. Una composición líquida también se puede administrar por vía oral. Las formulaciones para administración oral pueden incorporar agentes para mejorar la estabilidad dentro del tubo digestivo y/o mejorar la absorción.

Se desvela la administración por inhalación. Se puede administrar un análogo de compstatina en forma de una pulverización de aerosol a partir de un recipiente o dispensador presurizado que contiene un propulsor adecuado, p. ej., un gas tal como dióxido de carbono. Se puede usar un inhalador o nebulizador de dosis medida. El aerosol puede comprender partículas líquidas o aerosol seco (p. ej., polvos secos, partículas porosas grandes, etc.). Los vehículos acuosos adecuados incluyen agua o solución salina, que incluyen opcionalmente un alcohol. La composición puede comprender glicerol en agua, p. ej., glicerol aproximadamente al 2 % en agua. La composición puede comprender un tensioactivo adecuado para su introducción en el pulmón. Además o como alternativa, pueden utilizarse otros excipientes adecuados para administración pulmonar.

Hay diversos dispositivos diferentes para la administración por inhalación (que se denomina indistintamente "administración inhalada", "administración respiratoria" o "administración pulmonar"). Los nebulizadores son dispositivos que transforman soluciones o suspensiones de medicamentos en aerosoles que son adecuados para la deposición en la parte baja de las vías respiratorias. Los tipos de nebulizadores incluyen nebulizadores de chorro, nebulizadores por ondas de ultrasonidos y nebulizadores de malla vibratoria. Una lista parcial de nebulizadores de malla vibratoria disponibles incluye eFlow (Pari), i-Neb (Respironics), MicroAir (Omron), IHSO Nebulizer (Beurer) y Aeroneb® (Aerogen). Puede utilizarse un Respimat® Soft Mist™ Inhaler (Boehringer Ingelheim). Un inhalador de dosis medida (MDI) es un dispositivo de aerosol de mano que utiliza un propulsor para suministrar el agente terapéutico. Los MDI incluyen un cartucho metálico a presión que contiene el agente farmacológico en suspensión o solución, propulsor, tensioactivo (normalmente) y una válvula medidora. Se han utilizado ampliamente clorofluorocarbonos (CFC) como propulsores, pero se han sustituido en gran medida como hidrofluorocarbonos (HFC, también conocidos como hidrofluoroalcanos (FHA)), tales como HFC-134a y HFC-227ea. Otras alternativas son dióxido de carbono y nitrógeno. Un inhalador de polvo seco (DPI) es un dispositivo accionado por la respiración que suministra el fármaco en forma de partículas contenidas en una cápsula o blíster que se perfora antes de su uso y normalmente no emplea un propulsor. Algunos ejemplos de DPI utilizados actualmente para suministrar medicamentos para el tratamiento del asma y/o la EPOC incluyen, p. ej., Diskus, Aerolizer, HandiHaler, Twisthaler, Flexhaler. Dichos dispositivos pueden utilizarse para suministrar un análogo de compstatina. Otros dispositivos DPI ilustrativos incluyen 3M Conix™, TAIFUN® (AKELA Pharma), Acu-Breathe™ (Respirics) y dispositivos que incorporan la tecnología de inhalación de polvo Taper Dry, tales como el API-5000, en el que el principio activo (PA) se almacena en una cinta portadora microestructurada.

- Los dispositivos accesorios de inhalación (IAD) se encuadran generalmente en dos categorías: espaciadores y cámaras de contención. Los espaciadores y las cámaras de contención extienden la boquilla del inhalador y dirigen la nube de medicamento hacia la boca, reduciendo la medicación perdida en el aire. El uso de un espaciador con un MDI 5 puede ayudar a reducir la cantidad de fármaco que se queda pegada en la parte posterior de la garganta, lo que mejora la dirección y la deposición de la medicación administrada mediante el MDI. Las cámaras de contención con válvula (VHC) permiten que una fina nube de medicamento se mantenga en el espaciador hasta que el paciente la respira a través de una válvula unidireccional, arrastrando la dosis de medicamento a los pulmones. Algunos ejemplos incluyen Aerochamber y Optichamber.
- 10 Las composiciones en partículas pueden caracterizarse basándose en diversos parámetros, como la fracción de partículas finas (FPF), la dosis emitida, la densidad promedio de las partículas y la mediana del diámetro aerodinámico por masa (MMAD). Se conocen en la técnica métodos adecuados, y algunos de ellos se describen en las patentes estadounidenses 6.942.868 y 7.048.908 y en las publicaciones estadounidenses n.º 20020146373, 20030012742 y 15 20040092470. Las partículas de aerosol son normalmente de entre aproximadamente 0,5 µm y 10 µm (MMAD), p. ej., aproximadamente 5 µm para administración respiratoria, aunque también pueden utilizarse partículas de mayor o menor tamaño. Pueden utilizarse partículas que tienen una mediana del diámetro aerodinámico por masa de entre 1 µm y 25 µm, p. ej., entre 1 µm y 10 µm.
- 20 Una composición de partículas secas que contiene partículas menores de aproximadamente 1 mm de diámetro también se denomina en el presente documento polvo seco. Una composición "seca" tiene un contenido de líquido relativamente bajo, por lo que las partículas son fácilmente dispersables, p. ej., en un dispositivo de inhalación de polvo seco para formar un aerosol o pulverización. Un "polvo" consiste en gran medida o esencialmente en su totalidad en partículas sólidas finamente dispersas que fluyen de manera relativamente libre y que pueden dispersarse 25 fácilmente en un dispositivo de inhalación y posteriormente inhalarse por un sujeto, preferentemente de un modo que una parte significativa de las partículas puede alcanzar una porción deseada de las vías respiratorias. Pueden utilizarse partículas grandes porosas que tienen diámetros geométricos promedio en el intervalo de entre 3 y 15 µm y una densidad aparente de entre 0,05 y 0,6 g/cm³. Véase, p. ej., la patente estadounidense n.º 7.048.908; Edwards, D. et al, Science 276:1868-1871, 1997; y Vanbever, R., et al., Pharmaceutical Res. 16:1735-1742, 1999).
- 30 En el presente documento se desvelan diversas dosis, regímenes de dosificación y composiciones útiles para tratar pacientes mediante administración inhalada de un análogo de compstatina. El análogo de compstatina puede ser cualquiera de los análogos de compstatina descritos en el presente documento. El análogo de compstatina puede comprender cualquiera de los péptidos descritos en la sección III del presente documento. Por ejemplo, el análogo de compstatina puede comprender o consistir en cualquiera de las SEQ ID NO: 3 - 36, como se describe en el presente documento y/o puede comprender cualquiera de las modificaciones en relación con la compstatina descritas en el presente documento. El análogo de compstatina puede comprender o consistir en un péptido cuya secuencia se enumera en la tabla 1, p. ej., la SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, 32, 33, 34 o 36. Normalmente, el análogo de compstatina no comprende un resto reductor del aclaramiento, un resto reactivo con células o un resto de direccionamiento.
- 40 Normalmente, el análogo de compstatina tiene un peso molecular de entre 1,5 kD y 2,0 kD, o entre 2,0 kD y 2,5 kD. Normalmente, el análogo de compstatina tiene entre 11 y 25 aminoácidos, p. ej., exactamente 13, 14, 15, 16, 17 o 18 aminoácidos.
- 45 Normalmente, la dosis diaria total para la administración de un análogo de compstatina mediante inhalación (denominada indistintamente en el presente documento como "administración pulmonar" o "administración respiratoria") es de al menos 5 mg/día, p. ej., al menos 10 mg/día, al menos 15 mg/día, al menos 20 mg/día, al menos 25 mg/día o al menos 30 mg/día. Normalmente, la dosis diaria es de entre 5 mg/día y 20 mg/día, p. ej., de 10 mg/día o 15 mg/día. Normalmente, la dosis diaria es de entre 20 mg/día y 60 mg/día. Normalmente, la dosis es de 10 mg/día, 15 mg/día, 20 mg/día, 25 mg/día, 30 mg/día, 35 mg/día, 40 mg/día, 45 mg/día, 50 mg/día, 55 mg/día o 60 mg/día.
- 50 55 50 Como se describe en los ejemplos, en un ensayo clínico de fase I de un análogo de compstatina administrado mediante inhalación a sujetos sanos, se observaron posibles indicios de actividad farmacológica a dosis de 30 mg/día o 60 mg/día.
- La dosis diaria puede ser de entre 60 mg/día y 150 mg/día, p. ej., 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 o 150 mg/día. La dosis diaria puede ser de entre 150 mg/día y 350 mg/día, p. ej., 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340 o 350 mg/día. La dosis diaria puede administrarse en una única administración. La dosis diaria puede administrarse como dos o más dosis a lo largo del día (p. ej., por la mañana y por la noche).
- 60 65 60 También se desvela la administración tópica. Para aplicación tópica, se puede formular un análogo de compstatina en una pomada adecuada que contenga el componente activo suspendido o disuelto en uno o más vehículos. Los vehículos adecuados para administración tópica incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Como alternativa, las composiciones farmacéuticamente aceptables pueden formularse como una loción o crema adecuada que contiene un análogo de compstatina suspendido o disuelto en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, monoestearato de sorbitano, polisorbato 60, cera de

ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

También se desvela la administración sistémica, p. ej., por medios transmucosos o transdérmicos. Para administración transmucosa o transdérmica, se pueden usar en la formulación penetrantes adecuados para la barrera que se va a

5 atravesar. Dichos penetrantes se conocen en general en la técnica e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados del ácido fusídico. Se puede realizar administración transmucosa, p. ej., mediante el uso de aerosoles nasales o supositorios. Para administración transdérmica, los compuestos activos se formulan normalmente en pomadas, bálsamos, geles o cremas, como se conoce en general en la técnica.

10 Los compuestos también pueden prepararse en forma de supositorios (p. ej., con bases para supositorios convencionales, tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para suministro rectal.

15 Se puede preparar un análogo de compstatina u otro compuesto activo con vehículos que protejan el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tales como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de suministro microencapsulados. Por ejemplo, un análogo de compstatina puede incorporarse o encapsularse en una formulación de micropartículas o nanopartículas. Se pueden usar polímeros biocompatibles, biodegradables, tales como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, poliéteres, ácido poliláctico, PLGA, etc. Se pueden usar liposomas u otras partículas a base de lípidos como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse según métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en la patente de los Estados Unidos n.º 4.522.811 y/u otras referencias enumeradas en el presente documento. Se pueden usar formulaciones de liberación prolongada que contengan un análogo de compstatina. El análogo de compstatina se libera del depósito a lo largo del tiempo, p. ej., para proporcionar una concentración terapéutica durante más tiempo que si el compuesto se administrara por vía intravenosa. Un CRM puede conferir propiedades de liberación prolongada en un análogo de compstatina. Un experto habitual en la materia apreciará que los materiales y métodos seleccionados para la preparación de una formulación de liberación controlada, implante, etc., deberían ser tales que conserven la actividad del compuesto.

20 Se apreciará que el análogo de compstatina y/o el(s) agente(s) activo(s) adicional(es) se pueden proporcionar como una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las procedentes de bases y ácidos inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de sales ácidas adecuadas incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, alcanforato, alcanforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, malonato, metansulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Además, se pueden preparar sales farmacéuticamente aceptables como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, tales como sales de sodio, potasio o calcio, si es adecuado dependiendo de la identidad del agente activo.

25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040 2045 2050 2055 2060 2065 2070 2075 2080 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160 2165 2170 2175 2180 2185 2190 2195 2200 2205 2210 2215 2220 2225 2230 2235 2240 2245 2250 2255 2260 2265 2270 2275 2280 2285 2290 2295 2300 2305 2310 2315 2320 2325 2330 2335 2340 2345 2350 2355 2360 2365 2370 2375 2380 2385 2390 2395 2400 2405 2410 2415 2420 2425 2430 2435 2440 2445 2450 2455 2460 2465 2470 2475 2480 2485 2490 2495 2500 2505 2510 2515 2520 2525 2530 2535 2540 2545 2550 2555 2560 2565 2570 2575 2580 2585 2590 2595 2600 2605 2610 2615 2620 2625 2630 2635 2640 2645 2650 2655 2660 2665 2670 2675 2680 2685 2690 2695 2700 2705 2710 2715 2720 2725 2730 2735 2740 2745 2750 2755 2760 2765 2770 2775 2780 2785 2790 2795 2800 2805 2810 2815 2820 2825 2830 2835 2840 2845 2850 2855 2860 2865 2870 2875 2880 2885 2890 2895 2900 2905 2910 2915 2920 2925 2930 2935 2940 2945 2950 2955 2960 2965 2970 2975 2980 2985 2990 2995 3000 3005 3010 3015 3020 3025 3030 3035 3040 3045 3050 3055 3060 3065 3070 3075 3080 3085 3090 3095 3100 3105 3110 3115 3120 3125 3130 3135 3140 3145 3150 3155 3160 3165 3170 3175 3180 3185 3190 3195 3200 3205 3210 3215 3220 3225 3230 3235 3240 3245 3250 3255 3260 3265 3270 3275 3280 3285 3290 3295 3300 3305 3310 3315 3320 3325 3330 3335 3340 3345 3350 3355 3360 3365 3370 3375 3380 3385 3390 3395 3400 3405 3410 3415 3420 3425 3430 3435 3440 3445 3450 3455 3460 3465 3470 3475 3480 3485 3490 3495 3500 3505 3510 3515 3520 3525 3530 3535 3540 3545 3550 3555 3560 3565 3570 3575 3580 3585 3590 3595 3600 3605 3610 3615 3620 3625 3630 3635 3640 3645 3650 3655 3660 3665 3670 3675 3680 3685 3690 3695 3700 3705 3710 3715 3720 3725 3730 3735 3740 3745 3750 3755 3760 3765 3770 3775 3780 3785 3790 3795 3800 3805 3810 3815 3820 3825 3830 3835 3840 3845 3850 3855 3860 3865 3870 3875 3880 3885 3890 3895 3900 3905 3910 3915 3920 3925 3930 3935 3940 3945 3950 3955 3960 3965 3970 3975 3980 3985 3990 3995 4000 4005 4010 4015 4020 4025 4030 4035 4040 4045 4050 4055 4060 4065 4070 4075 4080 4085 4090 4095 4100 4105 4110 4115 4120 4125 4130 4135 4140 4145 4150 4155 4160 4165 4170 4175 4180 4185 4190 4195 4200 4205 4210 4215 4220 4225 4230 4235 4240 4245 4250 4255 4260 4265 4270 4275 4280 4285 4290 4295 4300 4305 4310 4315 4320 4325 4330 4335 4340 4345 4350 4355 4360 4365 4370 4375 4380 4385 4390 4395 4400 4405 4410 4415 4420 4425 4430 4435 4440 4445 4450 4455 4460 4465 4470 4475 4480 4485 4490 4495 4500 4505 4510 4515 4520 4525 4530 4535 4540 4545 4550 4555 4560 4565 4570 4575 4580 4585 4590 4595 4600 4605 4610 4615 4620 4625 4630 4635 4640 4645 4650 4655 4660 4665 4670 4675 4680 4685 4690 4695 4700 4705 4710 4715 4720 4725 4730 4735 4740 4745 4750 4755 4760 4765 4770 4775 4780 4785 4790 4795 4800 4805 4810 4815 4820 4825 4830 4835 4840 4845 4850 4855 4860 4865 4870 4875 4880 4885 4890 4895 4900 4905 4910 4915 4920 4925 4930 4935 4940 4945 4950 4955 4960 4965 4970 4975 4980 4985 4990 4995 5000 5005 5010 5015 5020 5025 5030 5035 5040 5045 5050 5055 5060 5065 5070 5075 5080 5085 5090 5095 5100 5105 5110 5115 5120 5125 5130 5135 5140 5145 5150 5155 5160 5165 5170 5175 5180 5185 5190 5195 5200 5205 5210 5215 5220 5225 5230 5235 5240 5245 5250 5255 5260 5265 5270 5275 5280 5285 5290 5295 5300 5305 5310 5315 5320 5325 5330 5335 5340 5345 5350 5355 5360 5365 5370 5375 5380 5385 5390 5395 5400 5405 5410 5415 5420 5425 5430 5435 5440 5445 5450 5455 5460 5465 5470 5475 5480 5485 5490 5495 5500 5505 5510 5515 5520 5525 5530 5535 5540 5545 5550 5555 5560 5565 5570 5575 5580 5585 5590 5595 5600 5605 5610 5615 5620 5625 5630 5635 5640 5645 5650 5655 5660 5665 5670 5675 5680 5685 5690 5695 5700 5705 5710 5715 5720 5725 5730 5735 5740 5745 5750 5755 5760 5765 5770 5775 5780 5785 5790 5795 5800 5805 5810 5815 5820 5825 5830 5835 5840 5845 5850 5855 5860 5865 5870 5875 5880 5885 5890 5895 5900 5905 5910 5915 5920 5925 5930 5935 5940 5945 5950 5955 5960 5965 5970 5975 5980 5985 5990 5995 6000 6005 6010 6015 6020 6025 6030 6035 6040 6045 6050 6055 6060 6065 6070 6075 6080 6085 6090 6095 6100 6105 6110 6115 6120 6125 6130 6135 6140 6145 6150 6155 6160 6165 6170 6175 6180 6185 6190 6195 6200 6205 6210 6215 6220 6225 6230 6235 6240 6245 6250 6255 6260 6265 6270 6275 6280 6285 6290 6295 6300 6305 6310 6315 6320 6325 6330 6335 6340 6345 6350 6355 6360 6365 6370 6375 6380 6385 6390 6395 6400 6405 6410 6415 6420 6425 6430 6435 6440 6445 6450 6455 6460 6465 6470 6475 6480 6485 6490 6495 6500 6505 6510 6515 6520 6525 6530 6535 6540 6545 6550 6555 6560 6565 6570 6575 6580 6585 6590 6595 6600 6605 6610 6615 6620 6625 6630 6635 6640 6645 6650 6655 6660 6665 6670 6675 6680 6685 6690 6695 6700 6705 6710 6715 6720 6725 6730 6735 6740 6745 6750 6755 6760 6765 6770 6775 6780 6785 6790 6795 6800 6805 6810 6815 6820 6825 6830 6835 6840 6845 6850 6855 6860 6865 6870 6875 6880 6885 6890 6895 6900 6905 6910 6915 6920 6925 6930 6935 6940 6945 6950 6955 6960 6965 6970 6975 6980 6985 6990 6995 7000 7005 7010 7015 7020 7025 7030 7035 7040 7045 7050 7055 7060 7065 7070 7075 7080 7085 7090 7095 7100 7105 7110 7115 7120 7125 7130 7135 7140 7145 7150 7155 7160 7165 7170 7175 7180 7185 7190 7195 7200 7205 7210 7215 7220 7225 7230 7235 7240 7245 7250 7255 7260 7265 7270 7275 7280 7285 7290 7295 7300 7305 7310 7315 7320 7325 7330 7335 7340 7345 7350 7355 7360 7365 7370 7375 7380 7385 7390 7395 7400 7405 7410 7415 7420 7425 7430 7435 7440 7445 7450 7455 7460 7465 7470 7475 7480 7485 7490 7495 7500 7505 7510 7515 7520 7525 7530 7535 7540 7545 7550 7555 7560 7565 7570 7575 7580 7585 7590 7595 7600 7605 7610 7615 7620 7625 7630 7635 7640 7645 7650 7655 7660 7665 7670 7675 7680 7685 7690 7695 7700 7705 7710 7715 7720 7725 7730 7735 7740 7745 7750 7755 7760 7765 7770 7775 7780 7785 7790 7795 7800 7805 7810 7815 7820 7825 7830 7835 7840 7845 7850 7855 7860 7865 7870 7875 7880 7885 7890 7895 7900 7905 7910 7915 7920 7925 7930 7935 7940 7945 7950 7955 7960 7965 7970 7975 7980 7985 7990 7995 8000 8005 8010 8015 8020 8025 8030 8035 8040 8045 8050 8055 8060 8065 8070 8075 8080 8085 8090 8095 8100 8105 8110 8115 8120 8125 8130 8135 8140 8145 8150 8155 8160 8165 8170 8175 8180 8185 8190 8195 8200 8205 8210 8215 8220 8225 8230 8235 8240 8245 8250 8255 8260 8265 8270 8275 8280 8285 8290 8295 8300 8305 8310 8315 8320 8325 8330 8335 8340 8345 8350 8355 8360 8365 8370 8375 8380 8385 8390 8395 8400 8405 8410 8415 8420 8425 8430 8435 8440 8445 8450 8455 8460 8465 8470 8475 8480 8485 8490 8495 8500 8505 8510 8515 8520 8525 8530 8535 8540 8545 8550 8555 8560 8565 8570 8575 8580 8585 8590 8595 8600 8605 8610 8615 8620 8625 8630 8635 8640 8645 8650 8655 8660 8665 8670 8675 8680 8685 8690 8695 8700 8705 8710 8715 8720 8725 8730 8735 8740 8745 8750 8755 8760 8765 8770 8775 8780 8785 8790 8795 8800 8805 8810 8815 8820 8825 8830 8835 8840 8845 8850 8855 8860 8865 8870 8875 8880 8885 8890 8895 8900 8905 8910 8915 8920 8925 8930 8935 8940 8945 8950 8955 8960 8965 8970 8975 8980 8985 8990 8995 9000 9005 9010 9015 9020 9025 9030 9035 9040 9045 9050 9055 9060 9065 9070 9075 9080 9085 9090 9095 9100 9105 9110 9115 9120 9125 9130 9135 9140 9145 9150 9155 9160 9165 9170 9175 9180 9185 9190 9195 9200 9205 9210 9215 9220 9225 9230 9235 9240 9245 9250 9255 9260 9265 9270 9275 9280 9285 9290 9295 9300 9305 9310 9315 9320 9325 9330 9335 9340 9345 9350 9355 9360 9365 9370 9375 9380 9385 9390 9395 9400 9405 9410 9415 9420 9425 9430 9435 9440 9445 9450 9455 9460 9465 9470 9475 9480 9485 9490 9495 9500 9505 9510 9515 9520 9525 9530 9535 9540 9545 9550 9555 9560 9565 9570 9575 9580 9585 9590 9595 9600 9605 9610 9615 9620 9625 9630 9635 9640 9645 9650 9655 9660 9665 9670 9675 9680 9685 9690 9695 9700 9705 9710 9715 9720 9725 9730 9735 9740 9745 9750 9755 9760 9765 9770 9775 9780 9785 9790 9795 9800 9805 9810 9815 9820 9825 9830 9835 9840 9845 9850 9855 9860 9865 9870 9875 9880 9885 9890 9895 9900 9905 9910 9915 9920 9925 9930 9935 9940 9945 9950 9955 9960 9965 9970 9975 9980 9985 9990 9995 9999

- aproximadamente 20 mg/kg/día. Se pueden administrar entre aproximadamente 0,5 mg/kg/día y aproximadamente 10 mg/kg/día de análogo de compstatina. Se pueden administrar entre aproximadamente 1 mg/kg/día y aproximadamente 5 mg/kg/día de análogo de compstatina. Se pueden administrar entre aproximadamente 1 mg/kg/día y aproximadamente 3 mg/kg/día de análogo de compstatina. Se pueden administrar entre 5 aproximadamente 3 mg/kg/día y aproximadamente 5 mg/kg/día de análogo de compstatina. Se pueden administrar entre aproximadamente 5 mg/kg/día y aproximadamente 7,5 mg/kg/día de análogo de compstatina. Se pueden administrar entre aproximadamente 7,5 mg/kg/día y aproximadamente 10 mg/kg/día de análogo de compstatina. Se apreciará que podrían usarse diversos regímenes de dosificación diferentes para administrar una cantidad diaria total deseada. Por ejemplo, se podría administrar una cantidad deseada de análogo de compstatina en una sola administración o en múltiples administraciones, p. ej., durante un periodo de 24 horas. Por ejemplo, un sujeto podría recibir dos o más dosis en un periodo de 24 horas, dosis que podrían administrarse durante el mismo periodo de tiempo o durante diferentes periodos de tiempo.
- Un análogo de compstatina puede administrarse a intervalos temporales superiores a 24 horas. Por ejemplo, las dosis se podrían administrar en promedio cada dos días, cada 3-4 días, semanalmente, cada dos semanas, etc. Los análogos de compstatina unidos covalentemente, de acción prolongada o dirigidos pueden proteger células, tejidos, órganos, durante un periodo de semanas o meses sin necesidad de volver a tratar. Por ejemplo, los sujetos pueden mantenerse con nuevo tratamiento a intervalos de entre 1 y 2 semanas, 2-4 semanas, 4-6 semanas, 6-8 semanas o incluso más.
- Se divulga la administración subcutánea. Por ejemplo, se desvela la administración de aproximadamente 0,1-5 mg/kg/día, p. ej., aproximadamente 0,5-2 mg/kg/día, p. ej., en un volumen de aproximadamente 0,25 ml-2 ml, p. ej., un volumen de aproximadamente 1 ml. La concentración puede ser de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 300 mg/ml, p. ej., aproximadamente 50 mg/ml - aproximadamente 100 mg/ml o aproximadamente 100 mg/ml - aproximadamente 200 mg/ml.
- La administración puede ser diaria. La administración puede ser 1 o 2 veces al día. Como se describe adicionalmente en los ejemplos, la administración subcutánea diaria de un análogo de compstatina de acción prolongada ilustrativo logró fácilmente niveles en sangre muy superiores a 5 micromolar. Puede usarse administración intramuscular para administrar cantidades similares de compuesto.
- Se puede administrar un análogo de compstatina de acción prolongada usando una cantidad terapéuticamente eficaz a un sujeto, en donde dicha administración da como resultado concentraciones en sangre del compuesto que alcanzan un nivel superior a al menos 1 μ M, al menos 2 μ M, al menos 2,5 μ M, , al menos 3 μ M, al menos 4 μ M, al menos 5 μ M, al menos 6 μ M, al menos 7 μ M, al menos 8 μ M, al menos 9 μ M, al menos 10 μ M, al menos 11 μ M, al menos 12 μ M o al menos 13 μ M, al menos 14 μ M, al menos 15 μ M, al menos 16 μ M, al menos 18 μ M, o al menos aproximadamente 20 μ M, o al menos aproximadamente 25 μ M o dentro de cualquier intervalo entre 4 μ M y aproximadamente 15 μ M o aproximadamente 20 μ M o aproximadamente 25 μ M. Dicho nivel puede mantenerse durante al menos aproximadamente 24 horas, o al menos aproximadamente 48 horas, o al menos aproximadamente 72 horas, o al menos aproximadamente 96 horas, o al menos aproximadamente 120 horas o al menos aproximadamente 144 horas después de una sola inyección IV o después de inyecciones subcutáneas diarias durante aproximadamente 5-7 días. Se pueden alcanzar niveles constantes durante más tiempo, p. ej., hasta aproximadamente 10 días, 12 días, 14 días o más.
- Un sujeto puede ser tratado para mantener un nivel en equilibrio de aproximadamente 1,0 μ M, aproximadamente 2,0 μ M, aproximadamente 2,5 μ M, aproximadamente 3,0 μ M, aproximadamente 3,5 μ M, aproximadamente 4,0 μ M, aproximadamente 4,5 μ M, aproximadamente 5,0 μ M, aproximadamente 5,5 μ M, aproximadamente 6,0 μ M, aproximadamente 6,5 μ M, aproximadamente 7,0 μ M, aproximadamente 7,5 μ M, aproximadamente 8,0 μ M, aproximadamente 8,5 μ M, aproximadamente 9,0 μ M, aproximadamente 9,5 μ M o aproximadamente 10 μ M. Un nivel en equilibrio puede tener un valor entre aproximadamente 1,0 μ M y aproximadamente 10,0 μ M, p. ej., entre aproximadamente 2,0 μ M y aproximadamente 5,0 μ M, entre aproximadamente 2,5 μ M y aproximadamente 5,0 μ M, entre aproximadamente 5,0 μ M y aproximadamente 7,5 μ M o entre aproximadamente 7,5 μ M y aproximadamente 10 μ M, o cualquier valor intermedio dentro de cualquiera de los intervalos mencionados anteriormente. Una concentración puede ser suficiente para inhibir sustancialmente la lisis de glóbulos rojos de pacientes con HPN expuestos al suero humano *in vitro*, p. ej., usando un ensayo de Ham modificado usando suero humano (véase, p. ej., ejemplo 8). Una concentración puede ser suficiente para reducir al menos en 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más, la lisis de glóbulos rojos de pacientes con HPN expuestos al suero humano *in vitro*, p. ej., usando un ensayo de Ham modificado usando suero humano (véase, p. ej., ejemplo 8). Se puede realizar un ensayo de Ham usando suero humano ajustado a un nivel de magnesio a aproximadamente 0,005 mol/l y un pH reducido a aproximadamente 6,2 para activar el complemento. Los ejemplos 18 y 19 presentan datos que confirman la capacidad de los análogos de compstatina descritos en el presente documento para inhibir la lisis de glóbulos rojos de pacientes con HPN.
- Los análogos de compstatina, p. ej. análogos de compstatina de acción prolongada, pueden proteger a los glóbulos rojos de pacientes con HPN de la acumulación de cantidades significativas de C3 y/o productos de activación de C3 en su superficie. Por ejemplo, los glóbulos rojos de HPN que están protegidos de la lisis mediada por el complemento por análogos de compstatina, p. ej. análogos de compstatina de acción prolongada, también pueden estar protegidos

contra la acumulación de cantidades significativas de C3 y/o productos de activación de C3 en su superficie. Como se conoce en la técnica, eculizumab (Soliris®, Alexion Pharmaceuticals. Inc.), es un anticuerpo monoclonal humanizado anti-C5 que está aprobado para el tratamiento de HPN y SHUa en varios países (véase, p. ej., Dmytruk A, FDA report: eculizumab (Soliris) for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Oncologist. Septiembre 5 de 2008; 13 (9): 993-1000. doi: 10.1634/theoncologist.2008-0086. Epub 10 de septiembre de 2008; Westra D., A new era in the diagnosis and treatment of atypical haemolytic uraemic syndrome. Neth J Med. abril de 2012; 70 (3): 121-9). Se ha informado de que cuando los glóbulos rojos de HPN se exponen a eculizumab, pueden presentar acumulación de cantidades significativas de C3 y/o productos de activación de C3 en su superficie, lo que puede contribuir a la eliminación y/o hemólisis extravascular de estas células (p. ej., en el bazo) y pueden, por tanto, explicar al menos en parte las anomalías hematológicas persistentes, p. ej., anemia persistente, observas en algunos pacientes con HPN a pesar del tratamiento con eculizumab. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, esto se puede producir debido a la inhibición de la formación del MAC por eculizumab, que protege las células de la lisis mediada por MAC pero no inhibe la activación de C3 o el depósito de C3 y/o productos de la activación de C3 y deja a las células de HPN vulnerables a la activación de C3 en la superficie y al depósito de C3 y/o productos de la activación de C3 debido a su 10 falta de proteínas inhibidoras del complemento ancladas por GPI. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, la capacidad de los análogos de compstatina descritos en el presente documento para inhibir la activación de C3 y, de este modo, inhibir la producción de productos de activación de C3 puede proporcionar una ventaja significativa. Un sujeto que ha sido o está siendo tratado con eculizumab y continúa presentando pruebas de hemólisis, p. ej., hemólisis clínicamente significativa, tal como que provoca anemia y/o que requiere transfusión puede tratarse con un análogo 15 de compstatina descrito en el presente documento. Se puede usar un análogo de compstatina a una concentración suficiente para que el nivel de C3 y/o productos de activación de C3 en glóbulos rojos de HPN expuestos al análogo de compstatina (*in vitro* (p. ej., en un ensayo de Ham) o *in vivo*) esté dentro del intervalo presentado por glóbulos rojos normales de sujetos sanos. El nivel de C3 y/o productos de activación de C3 en glóbulos rojos de HPN expuestos al análogo de compstatina (*in vitro* (p. ej., en un ensayo de Ham) o *in vivo*) puede estar en un intervalo de 20 aproximadamente 1,2, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 o 5,0 del nivel promedio o límite superior de lo normal. El nivel de C3 y/o productos de activación de C3 en glóbulos rojos de HPN expuestos a un análogo de compstatina (*in vitro* (p. ej., en un ensayo de Ham) o *in vivo*) puede ser inferior al nivel de C3 y/o productos de activación de C3 en glóbulos 25 rojos de HPN expuestos a Soliris a una concentración que proporciona protección equivalente contra lisis mediada por el complemento. El nivel de C3 y/o productos de activación de C3 en glóbulos rojos de HPN expuestos a un análogo de compstatina (*in vitro* o *in vivo*) puede no ser superior a aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 % 30 o 50 % del nivel de C3 y/o productos de activación de C3 en glóbulos rojos de HPN expuestos a eculizumab a una concentración que proporciona protección equivalente contra lisis mediada por el complemento. El nivel de C3 y/o productos de activación de C3 en glóbulos rojos de HPN expuestos al análogo de compstatina (*in vitro* o *in vivo*) puede estar en un intervalo de aproximadamente 1,2, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 o 5,0 del nivel promedio o límite superior 35 de un intervalo normal. Las células de HPN pueden comprender o consistir en células de HPN de tipo II, células de HPN de tipo III o una mezcla de las mismas. Los glóbulos rojos pueden ser al menos 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más glóbulos rojos de tipo III y/o tipo II. Las células pueden comprender algunas células de tipo I. Los glóbulos rojos se pueden clasificar como tipo I, II o III en función del nivel de una proteína anclada a GPI tal como 40 CD59 en su superficie, que puede medirse usando citometría de flujo, inmunofluorescencia o ELISA, p. ej., usando un anticuerpo (p. ej., un anticuerpo monoclonal) u otro agente de unión que se une con dicha proteína anclada a GPI. La inhibición del depósito de C3 y/o productos de activación de C3 en células o superficies puede usarse como un indicador de eficacia de un análogo de compstatina en otras enfermedades mediadas por el complemento, tales como SHUa, otras enfermedades hemolíticas mediadas por el complemento u otras enfermedades mediadas por el complemento. Por ejemplo, un análogo de compstatina puede inhibir dicha deposición en células endoteliales en un 45 sujeto con SHUa. El nivel de C3 y/o producto(s) de activación C3 puede medirse usando citometría de flujo, inmunofluorescencia o ELISA, p. ej., usando un anticuerpo (p. ej., un anticuerpo monoclonal) u otro agente de unión que se une con C3 y/o con uno o más productos de activación de C3. Un producto de activación de C3 puede ser C3b, C3c o C3d. Un agente de unión puede unirse con C3d. Un agente de unión puede unirse con C3d y al menos a otro producto de activación de C3. Los glóbulos rojos de pacientes con HPN que han entrado en contacto con un análogo 50 de compstatina *in vitro* (p. ej., en un ensayo de Ham) pueden protegerse del complemento activado de modo que la proporción relativa (porcentajes) de células de tipo I, tipo II y tipo III o la proporción relativa o porcentajes de tipo III y tipo I, tipo II y tipo I o tipo III y tipo II, son aproximadamente iguales que en un ensayo de control en el que se usa complemento inactivado (p. ej., complemento inactivado por calor). Los glóbulos rojos de pacientes con HPN que han entrado en contacto con un análogo de compstatina *in vitro* (p. ej., en un ensayo de Ham) pueden protegerse del complemento activado de modo que la proporción relativa o porcentajes de células de tipo I, tipo II y tipo III o la 55 proporción relativa o porcentajes de tipo III y tipo I, tipo II y tipo I o tipo III y tipo II, están en un intervalo de 5 % de las proporciones o porcentajes obtenidos en un ensayo de control en el que se usa complemento inactivado (p. ej., complemento inactivado por calor). El complemento puede inactivarse mediante inactivación por calor, que puede realizarse calentando componentes del complemento o suero o plasma que contiene componentes del complemento 60 a 56 grados C o más.

Pueden usarse adicionalmente o como alternativa mediciones de LDH (una enzima que es abundante en glóbulos rojos y puede actuar como un marcador de hemólisis), uno o más parámetros hematológicos tales como hematocrito, mediciones de hemoglobina y/o reticulocitos para determinar la cantidad de lisis. Se pueden usar uno o más de dichos 65 métodos para determinar la cantidad de lisis de los glóbulos rojos, p. ej., glóbulos rojos que son susceptibles a la lisis mediada por el complemento, p. ej., células de pacientes con HPN, células de pacientes con SHUa, células de sujetos

con otros trastornos hematológicos mediados por el complemento, células expuestas a niveles anormalmente altos de activación del complemento. Como se desvela en el presente documento, se pueden poner en contacto una o más células *in vitro* o *in vivo* con un análogo de compstatina descrito en el presente documento y puede medirse el efecto del análogo de compstatina en uno o más indicadores de daño celular mediado por el complemento y/o activación o depósito del complemento de la superficie celular. Poner en contacto la o las células durante un tiempo suficiente a una concentración suficiente puede dar como resultado una reducción de un valor anormalmente alto o un aumento de un valor anormalmente bajo dentro de un intervalo normal o a una distancia de 5 %, 10 %, 15 %, 20 % o 25 % del límite inferior o superior de un intervalo normal.

5 En el presente documento se desvela un método para seleccionar o modificar un régimen de dosificación o uno o más componentes de un régimen de dosificación para un paciente con una enfermedad hemolítica mediada por el complemento, tal como la HPN. El o los componentes de un régimen de dosificación pueden comprender una dosis, intervalo de dosificación, vía de administración (p. ej., IV o subcutánea) o combinación de los mismos. Una dosis puede ser una dosis de carga, dosis de mantenimiento o ambas. Se pueden obtener una o más muestras de sangre de un paciente y un régimen de dosificación o componente del mismo para un análogo de compstatina, p. ej., un análogo de compstatina de acción prolongada, se pueden seleccionar o modificar para lograr un nivel deseado de protección de los glóbulos rojos del paciente contra la lisis y/o contra la acumulación de C3 y/o productos de activación de C3 *in vitro*. Una o más dosis de un análogo de compstatina de acción prolongada, se pueden administrar a un paciente y posteriormente se pueden obtener una o más muestras de sangre de un paciente y evaluar el nivel de C3 y/o producto(s) de activación de C3 en su superficie. Un régimen de dosificación o componente del mismo, p. ej., una dosis, intervalo de dosificación o vía de administración, puede seleccionarse o modificarse para lograr un nivel deseado de protección de los glóbulos rojos del paciente contra la lisis y/o la acumulación de C3 y/o productos de activación de C3 *in vitro* o *in vivo*. Un régimen de dosificación o componente del mismo, p. ej., dosis, intervalo de dosificación o vía de administración, puede seleccionarse o modificarse para lograr un nivel deseado de protección de los glóbulos rojos del paciente contra la eliminación extravascular y/o la lisis extravascular *in vivo*. Un nivel deseado puede ser, p. ej., un nivel que se acepta en la técnica que proporciona un beneficio clínicamente significativo, un nivel que proporciona un beneficio clínicamente significativo para un paciente en particular, un nivel que está dentro del intervalo normal, un nivel seleccionado por un facultativo o cualquier otro nivel seleccionado. Un intervalo normal para un parámetro puede ser conocido en la técnica y/o puede ser un intervalo de referencia establecido por un laboratorio, p. ej., un laboratorio clínico, en donde el valor del parámetro relevante medido en al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de la población general o al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de los individuos sanos (que opcionalmente se pueden ajustar para una o más variables demográficas tales como sexo, edad, etc.) o muestras biológicas de ensayo obtenidas de los mismos (tales como muestras de sangre) quedarían dentro del intervalo de referencia. Se puede establecer un intervalo de referencia usando una población de muestras representativa de la población general o representativa de individuos sanos.

10 35

Un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un CRM puede diseñarse para conferir una velocidad de absorción sistémica más lenta después de la administración subcutánea o intramuscular a un sujeto en comparación con un análogo de compstatina que no comprende un CRM. Las propiedades particulares de CRM, p. ej., longitud, pueden seleccionarse para conferir una velocidad deseada de absorción sistémica después de la administración subcutánea o intramuscular en comparación con al menos algunos otros CRM. La Cmáx puede reducirse en comparación con una dosis comparable de un análogo de compstatina no ligado a un CRM, lo que puede contribuir de este modo a mantener la concentración en plasma dentro de una ventana deseada, p. ej., la ventana terapéutica, para el compuesto. Una composición análoga de compstatina de acción prolongada puede caracterizarse por que una dosis, cuando se administra por vía subcutánea, parece completamente absorbida en un periodo de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 15, 30, 45, 60, 90 o 120 horas después de la administración en función de la observación visual en el sitio de inyección.

40 45 50 55 60 65

Se entenderá que puede haber una fase de tratamiento inicial durante la que el tratamiento es más frecuente y/o en la que se administran dosis mayores. Por ejemplo, en un sujeto con HPN o SHUa, pueden ser necesarias varias dosis para lograr la protección de una fracción sustancial de los glóbulos rojos del sujeto. A continuación, se podrían usar dosis más bajas y/o dosificación menos frecuente, p. ej., para proteger los glóbulos rojos recién formados y/o para reponer la protección de los glóbulos rojos existentes. Por supuesto, se pueden seguir enfoques similares para el tratamiento de cualquier enfermedad cuando sea adecuado. Se desvela el tratamiento iniciado usando administración IV y después se cambia a una vía alternativa, p. ej., subcutánea, intramuscular, transdérmica o intradérmica para terapia de mantenimiento. Dependiendo de la enfermedad, el tratamiento puede continuar a intervalos durante, p. ej., meses, años o indefinidamente. Las dosis y el régimen de dosificación adecuados dependen, al menos en parte, de la potencia y la semivida del análogo de compstatina (u otro agente activo) y, opcionalmente, pueden adaptarse al receptor particular, por ejemplo, mediante la administración de dosis crecientes hasta lograr una respuesta deseada preseleccionada, tal como un grado deseado de inhibición del complemento y/o protección celular. Si se desea, el nivel de dosis específico para cualquier sujeto particular puede seleccionarse en función al menos en parte de diversos factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la afección particular que se trate, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, la vía de administración, la velocidad de secreción, cualquier combinación de fármacos y/o el grado de expresión o actividad de la proteína del complemento medido en una o más muestras obtenidas del sujeto.

Como se desvela en el presente documento, puede cambiarse el tratamiento de un paciente de un inhibidor del complemento que no comprende un análogo de compstatina al tratamiento con un análogo de compstatina, p. ej., un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP), reactivo con células o dirigido. Por concisión, esto se describe con referencia a un ACAP, pero como alternativa, puede emplearse para cambiar a un paciente al tratamiento con un análogo de compstatina reactivo con células o dirigido. Un paciente al que se administra un análogo de compstatina, p. ej., un ACAP, puede estar en tratamiento con un inhibidor del complemento diferente que no comprende un análogo de compstatina en el momento en que comienza el tratamiento con un análogo de compstatina, p. ej., un ACAP. Cuando se administra un análogo de compstatina a un paciente que está en tratamiento con un inhibidor del complemento diferente que no comprende un análogo de compstatina en el momento en que comienza el tratamiento con un análogo de compstatina, puede estar inhibido el sistema del complemento del paciente (p. ej., medido con un ensayo adecuado, tal como un ensayo de hemólisis inducida por suero *ex vivo* usando el suero del paciente) en el momento en que comienza el tratamiento con un ACAP. El inhibidor del complemento diferente puede ser un inhibidor de C5 (es decir, un agente que inhibe la activación y/o la actividad de C5, normalmente uniéndose a C5). El inhibidor de C5 puede ser un anticuerpo anti-C5, tal como eculizumab, un ARNpi anti-C5, tal como ALN-CC5 (Alnylam Pharmaceuticals), un polipéptido anti-C5, tal como Coversin (Volution Immuno Pharmaceuticals, Ltd.), o una molécula pequeña anti-C5. El inhibidor del complemento diferente puede ser un inhibidor de C3. El tratamiento con el inhibidor del complemento diferente, p. ej., inhibidor de C5, puede detenerse y cambiarse el tratamiento del paciente al ACAP. Se entenderá que el cambio de tratamiento a un ACAP se realiza deseablemente de tal forma que el paciente no sufre una reducción clínicamente significativa en la inhibición del sistema de complemento durante la transición al tratamiento con un ACAP como único tratamiento inhibidor del complemento.

Por ejemplo, en el caso de un paciente con una anemia hemolítica mediada por el complemento, tal como la HPN, el paciente no sufre un aumento clínicamente significativo en la hemólisis, p. ej., medida mediante el nivel de LDH y/o mediante actividad hemolítica del suero cuando se detiene el tratamiento con el inhibidor del complemento diferente. Puede monitorizarse al paciente y la transición se controla de tal modo que el paciente no experimenta un aumento medible de más del 10 % en la concentración de LDH o un aumento medido de más del 10 % en la actividad hemolítica. La transición al tratamiento con un ACAP como único tratamiento inhibidor del complemento puede realizarse de tal forma que se mantiene al menos un 80 % de inhibición de la actividad hemolítica del suero *ex vivo* durante el periodo de transición. "Periodo de transición" se refiere al periodo de tiempo que comienza el día de la primera dosis de un ACAP y que termina 4 veces X días de la última dosis del inhibidor del complemento diferente, donde "X" representa el intervalo de dosificación al que se estaba administrando el inhibidor del complemento diferente al paciente antes de la primera dosis del ACAP, p. ej., el intervalo de dosificación recomendado del inhibidor del complemento diferente cuando se usa a la dosis recomendada. "Dosis recomendada" para una medicación se refiere a la dosis especificada en la ficha técnica de dicha medicación en la ficha técnica completa aprobada por la FDA de los Estados Unidos o, si la medicación no cuenta con la aprobación de la FDA, la dosis especificada en la ficha técnica para un medicamento en la ficha técnica completa aprobada por la agencia gubernamental responsable de la autorización de medicamentos en la jurisdicción particular en la que se usa la medicación. "Intervalo de administración recomendado" para un medicamento se refiere al intervalo de dosificación especificado para dicha medicación en la ficha técnica y/o en la ficha técnica completa aprobada por la FDA de los Estados Unidos o, si la medicación no cuenta con la aprobación de la FDA, el intervalo de dosificación especificado en la ficha técnica y/o en la ficha técnica completa aprobada por la agencia gubernamental responsable de la autorización de medicamentos en la jurisdicción particular en la que se utiliza la medicación. Se entenderá que una medicación puede tener dos o más regímenes de dosificación recomendados. Dichos regímenes de dosificación pueden ser adecuados para diferentes indicaciones, adecuados para pacientes que tienen diferentes características o simplemente, combinaciones de dosis, intervalos de dosificación y rutas de administración terapéuticamente eficaces alternativos. Cuando una medicación tiene dos o más regímenes de dosificación recomendados, se entenderá que la expresión "intervalo de dosificación recomendado" se refiere al intervalo de dosificación recomendado para la dosis concreta que se está administrando por la vía de administración particular que se está empleando.

Un ACAP puede administrarse en primer lugar a un paciente que ha recibido al menos una dosis de un inhibidor del complemento diferente dentro de un periodo de tiempo no superior a 1,5 veces el intervalo de dosificación recomendado del inhibidor del complemento diferente, p. ej., dentro de un periodo de tiempo no superior a la mitad del intervalo de dosificación recomendado del inhibidor del complemento diferente. El paciente puede haber recibido al menos una dosis del inhibidor del complemento diferente en las 2 semanas anteriores a la primera dosis de un ACAP del paciente. El paciente puede haber recibido al menos una dosis del inhibidor del complemento diferente en el plazo de 1 semana antes de la primera dosis de un ACAP del paciente. El paciente puede haber recibido una dosis del inhibidor del complemento diferente menos de una semana antes de la primera dosis de un ACAP del paciente. El paciente puede haber recibido una dosis del inhibidor del complemento diferente el mismo día de la primera dosis de un ACAP del paciente. El paciente puede haber recibido tratamiento con una cantidad eficaz del inhibidor del complemento diferente y una cantidad eficaz de un ACAP a fin de mantener concentraciones sanguíneas terapéuticamente eficaces tanto del inhibidor del complemento diferente como del ACAP durante un periodo de tiempo. Dicho periodo de tratamiento conjunto puede tener una duración de, p. ej., entre 1 semana y 2 semanas, entre 2 semanas y 4 semanas, entre 4 semanas y 6 semanas, entre 6 semanas y 8 semanas, entre 8 semanas y 12 semanas, entre 12 semanas y 26 semanas. El periodo de tratamiento conjunto puede ser de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 meses. El periodo de tratamiento conjunto puede ser el periodo de tiempo desde la primera dosis del ACAP hasta la última dosis del inhibidor del complemento diferente. El inhibidor del complemento diferente puede administrarse a la dosis

de mantenimiento habitual que el paciente ha estado recibiendo antes de iniciar el tratamiento con el ACAP. El inhibidor del complemento diferente puede administrarse a una dosis que se reduce (gradualmente) con el paso del tiempo hasta que se acaba deteniendo el tratamiento con el inhibidor del complemento diferente. Por ejemplo, la dosis del inhibidor del complemento diferente puede reducirse a aproximadamente el 67 % de la dosis de mantenimiento, 5 después a aproximadamente el 33 % de la dosis de mantenimiento para la última dosis. La dosis del inhibidor del complemento diferente puede reducirse a aproximadamente el 75 % de la dosis de mantenimiento, después a 10 aproximadamente el 50 % de la dosis de mantenimiento, y después a aproximadamente el 25 % de la dosis de mantenimiento para la última dosis. El periodo total durante el que se trata al paciente tanto con un ACAP como con 15 un inhibidor del complemento diferente (es decir, el tiempo desde la primera dosis del ACAP hasta la última dosis del primer inhibidor del complemento) puede ser de entre 2 semanas y 26 semanas. En ocasiones, no se reduce gradualmente la dosis del inhibidor del complemento diferente. En cambio, p. ej., después de haberse alcanzado una concentración en sangre terapéuticamente eficaz del ACAP, puede dejarse que se reduzca gradualmente la concentración sanguínea del inhibidor del complemento diferente a medida que se metaboliza o se elimina de otro modo del organismo. Puede monitorizarse la hemólisis inducida por suero *ex vivo* de un paciente con suero del 20 paciente durante la transición y/o posteriormente. Si no se reduce la hemólisis inducida por suero *ex vivo* con suero del paciente en al menos un 80 %, p. ej., al menos un 90 %, cuando se mide durante la transición del tratamiento con el inhibidor del complemento diferente al tratamiento con el ACAP como único inhibidor del complemento, puede aumentarse la dosis del ACAP. La reducción en la opsonización de los glóbulos rojos de un paciente con HPN por 25 fragmentos de C3, tales como C3d, puede servir como indicador de que el paciente está recibiendo una cantidad terapéuticamente eficaz de un ACAP. El tratamiento tanto con el inhibidor del complemento diferente, p. ej., inhibidor de C5, como con el ACAP, puede continuarse durante al menos 6 meses, p. ej., entre 6 y 12 meses, entre 12 y 24 meses o más (p. ej., de manera indefinida). El inhibidor del complemento diferente y/o el ACAP pueden administrarse a una dosis menor de la que se usaría si se estuviese utilizando como único tratamiento inhibidor del complemento para el paciente. Cabe destacar que, análogamente, puede cambiarse el tratamiento de un paciente de un ACAP a un tratamiento con un inhibidor del complemento diferente, si se desea, o de un tratamiento con un primer ACAP a un tratamiento con un ACAP diferente.

En el presente documento se desvelan ciertas dosis, regímenes de dosificación y composiciones útiles para administrar un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) a un sujeto. Se han utilizado determinadas dosis, 30 regímenes de dosificación y composiciones descritos en el presente documento en ensayos clínicos que implican la administración subcutánea o intravítreo de un ACAP que comprende un PEG lineal que tiene un peso molecular de 40 kD y dos restos de análogo de compstatina (uno unido a cada uno de los extremos del PEG lineal) a sujetos humanos sanos o a pacientes con HPN o que implican la administración de este mismo ACAP a pacientes con DMAE (véanse los ejemplos). Por consiguiente, en el presente documento se proporciona un ACAP que comprende un PEG 35 lineal que tiene un peso molecular de 40 kD y dos restos de análogo de compstatina, en donde los dos restos de análogo de compstatina están unidos a los extremos del PEG lineal (es decir, un resto de análogo de compstatina está unido a cada extremo del PEG), de tal forma que cada resto de análogo de compstatina se une a través de su extremo C al PEG lineal, como se define en el presente documento, para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento que es degeneración macular asociada a la edad (DMAE), opcionalmente atrofia 40 geográfica o DMAE intermedia, en un sujeto que lo necesita. En algunas realizaciones, el ACAP puede ser CA28-2GS-BF o CA28-2TS-BF.

Como se describe en el presente documento, el resto análogo de compstatina comprendido en el análogo de compstatina de acción prolongada para su uso de acuerdo con la invención comprende un espaciador de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEAc) que separa un aminoácido de lisina de la porción de un resto de análogo de compstatina que comprende una porción cíclica.

Los restos de análogo de compstatina comprendidos en el análogo de compstatina de acción prolongada para su uso de acuerdo con la invención están unidos a un PEG que tiene un peso molecular promedio de 40 kD mediante un 50 enlace de carbamato.

Un ACAP desvelado que difiera en uno o más aspectos del ACAP utilizado en los ensayos clínicos descritos en el presente documento puede comprender: (i) un polímero diferente como CRM (por ejemplo, una POZ, un polipéptido, un PEG ramificado), (ii) un polímero que tenga un peso molecular inferior o superior a 40 kD como CRM; (iii) un número 55 diferente de restos de análogo de compstatina (por ejemplo, 1, 3, 4, o más resto(s) de análogo(s) de compstatina, en lugar de 2 resto(s) de análogo(s) de compstatina), (iv) uno o más resto(s) de análogo(s) de compstatina que comprenda(n) una secuencia que difiera de la SEQ ID NO: 28 en lugar de la SEQ ID NO: 28 (por ejemplo, cualquiera de las otras moléculas de análogo de compstatina descritas en el presente documento); (v) una (una o más) molécula(s) de análogo de compstatina extendida(s) con un resto de aminoácido diferente (o secuencia de 60 aminoácidos que comprenda dicho resto de aminoácido) que tenga(n) una cadena lateral que comprenda una amina primaria o secundaria en lugar de lisina o que comprenda(n) un grupo funcional reactivo diferente, como un grupo sulfhidrilo o reactivo con sulfhidrilo; (vi) un (uno o varios) análogo(s) de compstatina unido(s) a un CRM a través del extremo N del resto de análogo de compstatina en lugar de a través del extremo C; (vii) diferentes análogo(s) de compstatina bloqueantes en el extremo libre de uno o varios análogo(s) de compstatina; (viii) cualquier combinación 65 de dos o más de (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi), (vii) y (viii).

Los ACAP desvelados comprenden un polímero (por ejemplo, un PEG) con un peso molecular de aproximadamente 40 kD como CRM, por ejemplo, un polímero con un peso molecular de 36 kD-44 kD, 37 kD-43 kD, 38 kD-42 kD o 39 kD-41 kD. Otros ACAP desvelados comprenden un polímero cuyo peso molecular se encuentra dentro de un intervalo más amplio, como no superior a 45 kD, por ejemplo, 10 kD - 45 kD, 20 kD - 45 kD, 30 kD - 40 kD, 30 kD - 45 kD, 35 kD - 45 kD, o superior a 45 kD, por ejemplo, hasta 50 kD. Se entenderá que los pesos moleculares de un polímero pueden referirse al peso molecular medio de las moléculas de polímero en una composición, tal como se expone en el presente documento.

5 Las composiciones pueden comprender un 5 % de dextrosa como portador farmacéuticamente aceptable. Sin embargo, puede utilizarse cualquier portador farmacéuticamente aceptable.

10 Se desvelan diversas dosis, regímenes de dosificación y composiciones para tratar a pacientes mediante la administración subcutánea de un ACAP. En experimentos con un ACAP que comprende un resto de PEG de 40 kD, se descubrió que la viscosidad, más que la solubilidad, es el principal factor que limita la concentración de una 15 composición que comprende el ACAP que puede administrarse mediante inyección subcutánea o IVT de forma aceptable para médicos y pacientes en términos del tiempo y la presión necesarios para administrar un volumen determinado de la composición a través de una aguja de un diámetro interior o número de calibre determinado. El número de calibre describe el diámetro exterior de una aguja hueca; un número de calibre mayor indica un diámetro exterior menor. Por lo general, los pacientes y los médicos prefieren las agujas con un número de calibre más alto, ya 20 que pueden asociarse (o percibirse como asociadas) a un menor dolor y/o daño tisular en comparación con las agujas con un número de calibre más bajo. El diámetro interior depende tanto del diámetro exterior como del grosor de la pared. En el caso de las agujas estándar, cuanto mayor sea el número de calibre, menor será el diámetro interior (por ejemplo, una aguja de calibre 27 tiene un diámetro interior mayor que una aguja de calibre 29, que a su vez tiene un diámetro interior mayor que una aguja de calibre 30).

25 En algunas realizaciones, una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica, que comprende un ACAP tal como se define en las reivindicaciones tiene una concentración de 150 mg/ml. Se observó que una solución de 150 mg/ml de una ACAP que comprende un PEG de 40 kD puede administrarse fácilmente con una aguja de calibre 27. Por consiguiente, en algunas realizaciones se utiliza una aguja de calibre 27 para administrar una dosis de una ACAP 30 que comprende un PEG que tiene un peso molecular de aproximadamente 40 kD a una concentración de hasta 150 mg/ml, por ejemplo, 100 mg/ml - 150 mg/ml, por ejemplo, 100 mg/ml, 125 mg/ml o 150 mg/ml. En algunas realizaciones, una composición que comprende un ACAP con un PEG de 40 kD tiene una concentración de 150 mg/ml - 180 mg/ml. En algunas realizaciones, una composición que comprende un ACAP con un PEG con un peso molecular de 35 aproximadamente 40 kD tiene una concentración de 180 mg/ml - 200 mg/ml. En algunas realizaciones se utiliza una aguja de calibre 27 para administrar una composición que comprende un ACAP que tiene un PEG con un peso molecular de aproximadamente 40 kD a una concentración de 150 mg/ml - 160 mg/ml, 160 mg/ml - 170 mg/ml, 170 mg/ml - 180 mg/ml, 180 mg/ml - 190 mg/ml, o 190 mg/ml - 200 mg/ml. Por supuesto, puede utilizarse alternativamente una aguja con un número de calibre inferior (por ejemplo, calibre 25, 26) en lugar de una aguja con un número de calibre 27 (o superior).

40 45 La presente divulgación abarca el hallazgo de que una solución de 200 mg/ml de una ACAP que comprende un PEG de 40 kD puede administrarse fácilmente con una aguja de calibre 25. En algunas realizaciones se utiliza una aguja de calibre 25 o una aguja de calibre 26 para administrar una composición que comprende una ACAP que comprende un PEG de 40 kD a una concentración de 200 mg/ml, o más. En algunas realizaciones se utiliza una aguja de calibre 25 o una aguja de calibre 26 para administrar una composición que comprende un ACAP a una concentración de 200 mg/ml - 225 mg/ml o 225 mg/ml - 250 mg/ml.

50 En algunos aspectos, la presente divulgación enseña la utilidad particular de ciertas agujas de paredes finas para la administración de una ACAP de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, en algunas realizaciones se utiliza una aguja de pared delgada. Las agujas de pared fina tienen diámetros exteriores idénticos a los de las agujas estándar, pero diámetros interiores mayores para un calibre determinado. Por ejemplo, una aguja de pared fina puede tener un diámetro interno igual al de una aguja estándar de un calibre uno o dos números inferior (por ejemplo, una aguja de pared fina de calibre 29 puede tener un diámetro interno igual al de una aguja estándar de calibre 27 o 28, pero un diámetro externo igual al de una aguja estándar de calibre 29). Un aumento del diámetro interno puede dar 55 lugar a un aumento considerable del caudal de fluido para una presión dada y/o a una reducción considerable de la presión necesaria para mantener un caudal dado. Una presión más baja significa que se necesita menos fuerza de inyección para administrar una composición de una viscosidad dada. En general, una fuerza de inyección baja facilita la administración, por lo que suele ser una característica deseable. En algunas realizaciones, una aguja de pared fina tiene un diámetro interno determinado que es uniforme a lo largo de la longitud de la aguja. En algunas realizaciones, una aguja de pared fina tiene un diámetro interno que varía a lo largo de la longitud de la aguja. Por ejemplo, el diámetro puede ser el mismo que el de una aguja estándar de calibre 29 en un extremo de la aguja y progresar hasta el diámetro de una aguja estándar de calibre 27 en el otro extremo. En algunas realizaciones puede utilizarse una aguja microcónica. En algunas realizaciones puede utilizarse una aguja con una punta similar a la de un bisturí. La longitud de la aguja puede variar. En algunas realizaciones puede utilizarse una aguja corta, como una aguja de 5 mm o 6 mm. En algunas realizaciones puede utilizarse una aguja con una longitud entre 6 mm y 8 mm, o entre 8 mm y 12 mm. Las agujas y jeringuillas adecuadas están disponibles comercialmente, por ejemplo, de Becton Dickinson and

Company (BD), Terumo Corp., etc.

- En algunas realizaciones, una composición que tenga una viscosidad y/o concentración determinada puede administrarse utilizando una aguja de pared fina que tenga un calibre que sea uno o dos números superior al calibre que se utiliza preferentemente cuando se emplea una aguja estándar para administrar una composición de la misma viscosidad y/o concentración con un caudal y/o una fuerza de inyección seleccionados. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una composición que se administra preferentemente utilizando una aguja estándar de calibre 25 para alcanzar un caudal y/o una fuerza de inyección deseados puede administrarse con dicho caudal y/o fuerza de inyección utilizando una aguja de pared fina de calibre 26 o 27. En algunas realizaciones, una composición que se administra preferentemente utilizando una aguja estándar de calibre 27 con el fin de alcanzar el caudal y/o la fuerza de inyección deseados, puede administrarse con dicho caudal y/o fuerza de inyección utilizando una aguja de pared fina de calibre 28 o 29. En algunas realizaciones, una composición que se administra preferentemente utilizando una aguja estándar de calibre 29 con el fin de alcanzar un caudal y/o una fuerza de inyección deseados puede administrarse con dicho caudal y/o fuerza de inyección utilizando una aguja de pared fina de calibre 30 o 31. En algunas realizaciones se utiliza una aguja de pared delgada de calibre 29 para administrar una composición que comprende una ACAP con un PEG que tiene un peso molecular de 40 kD, tal como se define en las reivindicaciones, a una concentración de 150 mg/ml - 160 mg/ml, 160 mg/ml - 170 mg/ml, 170 mg/ml - 180 mg/ml, 180 mg/ml - 190 mg/ml, o 190 mg/ml - 200 mg/ml. Por supuesto, puede utilizarse alternativamente una aguja de pared fina con un número de calibre inferior (por ejemplo, calibre 27, 28) en lugar de una aguja de pared fina con un número de calibre 29 (o superior).
- Un volumen adecuado para una inyección SC individual puede ser de hasta 2 mililitros (ml) -3 ml. Así, por ejemplo, puede administrarse un volumen superior a 1,0 ml mediante inyección SC, por ejemplo, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9 o 2,0 ml. Un volumen superior a 2,0 ml puede administrarse mediante inyección SC, por ejemplo, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4 o 2,5 ml. Un volumen superior a 2,5 ml puede administrarse mediante inyección SC, por ejemplo, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9 o 3,0 ml. Puede utilizarse un volumen igual o inferior a 1 ml por inyección, por ejemplo, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 o 1,0 ml. El volumen diario total administrado a un paciente puede estar comprendido entre 1,0 y 2,5 ml, por ejemplo, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4 o 2,5 ml. Cuando se administran dos inyecciones SC, puede administrarse un volumen de hasta 5 ml. Puede administrarse un volumen de 1,0 - 2,5 ml como inyección única diaria. Puede administrarse un volumen de 1,0 - 2,5 ml como dos inyecciones separadas. Los volúmenes administrados en las dos inyecciones separadas pueden ser iguales o diferentes, siempre que juntos proporcionen un volumen total suficiente para administrar una cantidad deseada de ACAP. Las dos inyecciones separadas pueden administrarse con un intervalo de hasta 12 horas. Sin embargo, las dos inyecciones separadas pueden administrarse con un intervalo de hasta 5, 10, 15, 20, 30 o 60 minutos entre sí.
- En algunos aspectos, pueden utilizarse una o más dosis fijas para diferentes pacientes cuyo peso y/o superficie corporal pueden variar en rangos relativamente amplios. Pueden proporcionarse 2, 3 o más dosis fijas diferentes, en las que dosis diferentes pueden, por ejemplo, ser más adecuadas para individuos cuyo peso y/o superficie corporal se sitúan dentro de rangos diferentes.
- Puede utilizarse una dosis fija para administrar una cantidad de análogo de compstatina (por ejemplo, ACAP) que alcance un nivel deseado de inhibición del complemento (por ejemplo, medido en una muestra de plasma) en al menos el 25%, al menos el 50%, al menos el 75%, al menos el 90%, o al menos el 95%, o más, de sujetos sanos y/o en al menos el 25%, al menos el 50%, al menos el 75%, al menos el 90%, o al menos el 95%, o más, de pacientes que necesiten tratamiento para un trastorno concreto mencionado en el presente documento. Una dosis fija puede utilizarse para administrar una cantidad que alcance un nivel deseado de eficacia (por ejemplo, medido mediante un criterio de valoración apropiado) en al menos el 25%, al menos el 50%, al menos el 75% o al menos el 90% de los pacientes que necesiten tratamiento para un trastorno concreto mencionado en el presente documento. Una dosis descrita en el presente documento puede ser especialmente útil para la administración subcutánea (SC). Sin embargo, se da a conocer que las dosis aquí descritas pueden administrarse a un sujeto utilizando otras vías parenterales de administración en lugar o además de la vía subcutánea, como la intravenosa, la transdérmica o la intramuscular.
- Según lo divulgado en el presente documento, la dosis diaria total para la administración parenteral, por ejemplo, subcutánea, de un ACAP que comprenda dos moléculas análogas de compstatina y un PEG con un peso molecular de aproximadamente 40 kD puede ser de al menos 30 mg/día, por ejemplo, al menos 45 mg/día, por ejemplo, al menos 90 mg/día, por ejemplo, al menos 150 mg/día, por ejemplo, al menos 180 mg/día. La dosis diaria puede estar comprendida entre 90 mg/día y 180 mg/día. La dosis diaria puede estar entre 180 mg/día - 270 mg/día. La dosis puede ser, por ejemplo, de 180 mg/día - 230 mg/día. La dosis puede ser de al menos 190 mg/día, por ejemplo, 190 mg/día - 240 mg/día. La dosis puede ser de al menos 200 mg/día, por ejemplo, 200 mg/día - 250 mg/día. La dosis puede ser de al menos 210 mg/día, por ejemplo, 210 mg/día - 260 mg/día. La dosis puede ser de al menos 220 mg/día, por ejemplo, 220 mg/día - 270 mg/día. La dosis puede ser de al menos 230 mg/día, por ejemplo, 230 mg/día - 280 mg/día. La dosis puede ser de 180 mg/día, 190 mg/día, 200 mg/día, 205 mg/día, 210 mg/día, 215 mg/día, 220 mg/día, 225 mg/día, 230 mg/día, 235 mg/día, 240 mg/día, 245 mg/día, 250 mg/día, 255 mg/día, 260 mg/día, 265 mg/día o 270 mg/día. Una dosis de 180 mg/día - 270 mg/día puede administrarse en una única inyección diaria en un volumen de 1,5 ml - 2,0 ml. Una dosis de 180 mg/día - 270 mg/día puede administrarse en una única inyección diaria en un volumen de hasta 2,0 - 2,5 ml. Una dosis de 180 mg/día - 270 mg/día puede administrarse en dos inyecciones diarias, cada una de ellas con un volumen inferior a 2,0 ml, por ejemplo, entre 1,0 ml y 1,9 ml. Por ejemplo, una dosis diaria de 270

- mg/día puede administrarse en una única inyección en un volumen de 1,5 ml. Una dosis diaria de 270 mg/día puede administrarse en una única inyección en un volumen de 1,8 ml. Una dosis diaria de 270 mg/día puede administrarse en dos inyecciones diarias en un volumen de 0,9 ml cada una. Una dosis diaria de 270 mg/día puede administrarse en dos inyecciones diarias en un volumen de 0,9 ml - 1,2 ml cada una, por ejemplo, 1,0 ml, 1,05 ml, 1,1 ml, 1,15 ml o 1,2 ml. Una dosis diaria de 270 mg/día puede administrarse en dos inyecciones diarias en un volumen de 1,2 ml - 1,5 ml cada una, por ejemplo, 1,2 ml, 1,25 ml, 1,35 ml, 1,40 ml, 1,45 ml o 1,5 ml. Una dosis diaria de 270 mg/día puede administrarse en dos inyecciones diarias en un volumen de 1,5 ml - 1,9 ml cada una, por ejemplo, 1,55 ml, 1,6 ml, 1,65 ml, 1,7 ml, 1,75 ml, 1,8 ml, 1,85 ml o 1,90 ml.
- 10 Una dosis diaria total divulgada para la administración parenteral, por ejemplo, la administración subcutánea, de un ACAP que comprende dos fracciones análogas de compstatina y un PEG que tiene un peso molecular de aproximadamente 40 kD puede estar entre 270 mg/día - 360 mg/día. La dosis puede ser de 270 mg/día - 300 mg/día. La dosis puede ser de 300 mg/día - 330 mg/día. La dosis puede ser de 330 mg/día - 360 mg/día. La dosis puede ser de 295 mg/día, 300 mg/día, 305 mg/día, 310 mg/día, 315 mg/día, 320 mg/día, 325 mg/día, 330 mg/día, 335 mg/día, 340 mg/día, 345 mg/día, 350 mg/día, 355 mg/día o 360 mg/día. Una dosis de 270 mg/día - 360 mg/día puede administrarse en una única inyección diaria en un volumen de 1,5 ml - 2,0 ml o en una única inyección diaria en un volumen de hasta 2,0 - 2,5 ml. Una dosis de 270 mg/día - 360 mg/día (por ejemplo, cualquiera de las dosis mencionadas) puede administrarse en dos inyecciones diarias, cada una de ellas con un volumen inferior a 2,0 ml, por ejemplo, entre 1,0 ml y 1,9 ml, por ejemplo, 1,0 ml, 1,05 ml, 1,10 ml, 1,15 ml, 1,20 ml, 1,25 ml, 1,30 ml, 1,35 ml, 1,40 ml, 1,45 ml, 1,50 ml, 1,55 ml, 1,60 ml, 1,65 ml, 1,70 ml, 1,75 ml, 1,80 ml, 1,85 ml, 1,90 ml.

- Una dosis diaria total divulgada para la administración SC de un ACAP que comprende dos moléculas análogas de compstatina y un PEG con un peso molecular de aproximadamente 40 kD puede ser de al menos 360 mg/día, por ejemplo, 360 mg/día - 540 mg/día. La dosis diaria total puede ser superior a 360 mg/día, por ejemplo, hasta unos 540 mg/día. La dosis diaria total puede ser de 370 mg/día, 380 mg/día, 390 mg/día, 400 mg/día, 410 mg/día, 420 mg/día, 430 mg/día, 440 mg/día, 450 mg/día, 460 mg/día, 470 mg/día, 480 mg/día, 490 mg/día, 500 mg/día, 510 mg/día, 520 mg/día, 530 mg/día o 540 mg/día. Una dosis de 360 mg/día - 540 mg/día puede administrarse en una única inyección diaria, por ejemplo, en un volumen de unos 2,0 - 2,5 ml o 2,5 ml - 3,0 ml. Una dosis de 360 mg/día hasta unos 540 mg/día puede administrarse en dos inyecciones diarias, cada una de ellas con un volumen inferior a 2,0 ml, por ejemplo, entre 1,0 ml y 1,9 ml.

- 35 Se entenderá que las dosis y los volúmenes aquí descritos para la administración subcutánea (u otra vía de administración parenteral) pueden administrarse utilizando una aguja y una jeringa libres, un dispositivo de pluma, un autoinyector u otros medios conocidos por los expertos en la materia.

- 35 El tratamiento con un análogo de compstatina, por ejemplo, un ACAP, mediante administración subcutánea u otra vía de administración parenteral, por ejemplo, según cualquiera de los regímenes de dosificación y/o utilizando cualquiera de las dosis o dispositivos de administración descritos en el presente documento puede continuarse o durante cualquier periodo de tiempo, por ejemplo, indefinidamente. Un paciente puede ser tratado con un ciclo corto de tratamiento (p. ej., hasta 1 semana, 2 semanas o hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6 meses). Un tratamiento tan breve puede bastar para modificar la evolución de un trastorno (por ejemplo, HPN, NMO, miastenia grave, EPOC), de forma que se mantenga una remisión prolongada (por ejemplo, evidenciada por la ausencia de brotes o exacerbaciones) con un tratamiento intermitente, es decir, dejando que la ACAP se elimine del organismo entre los ciclos de tratamiento. Un sujeto puede ser tratado con un ciclo corto una o dos veces al año, cada dos años, etc. Un ciclo corto de tratamiento puede modificar el curso de un trastorno (por ejemplo, HPN, NMO, miastenia grave, EPOC, asma, fibrosis pulmonar idiopática, vasculitis, penfigoide), de forma que se consiga una remisión prolongada o la curación sin necesidad de tratamiento adicional. Sin querer ceñirnos a ninguna teoría, un ciclo corto de tratamiento con un análogo de compstatina, por ejemplo, un ACAP, puede ser suficiente para interrumpir un ciclo que perpetúa una respuesta inmunitaria contra células o tejidos (por ejemplo, componentes de los mismos como proteínas o lípidos) que son diana del ataque del sistema inmunitario en un trastorno mediado por complemento. Por ejemplo, un ciclo corto de tratamiento con un ACAP puede ser suficiente para interrumpir un ciclo que perpetúa una respuesta inmunitaria contra células o tejidos de la médula ósea (por ejemplo, células madre hematopoyéticas) (por ejemplo, en un paciente con HPN), del sistema nervioso (por ejemplo, células nerviosas, células gliales) (por ejemplo, en un paciente con NMO o miastenia grave), sistema circulatorio (por ejemplo, células endoteliales) (por ejemplo, en un paciente con una vasculitis), sistema respiratorio (por ejemplo, en un paciente con EPOC, asma o fibrosis pulmonar idiopática), sistema tegumentario (por ejemplo, en un paciente con penfigoide).

- 60 La invención proporciona un análogo de compstatina de acción prolongada como se define en las reivindicaciones para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento que sea DMAE, opcionalmente atrofia geográfica o DMAE intermedia, mediante la administración intravítreo (IVT) de la ACAP. En algunas realizaciones, el trastorno ocular es la DMAE, por ejemplo, la DMAE avanzada (atrofia geográfica [AG] o DMAE neovascular). Otros trastornos oculares divulgados incluyen la retinopatía diabética, el glaucoma o la uveítis.

- 65 De acuerdo con la invención, la ACAP comprende dos moléculas análogas de compstatina y un PEG con un peso molecular de 40 kD, tal como se define en las reivindicaciones, y se administra por vía intravítreo al ojo del sujeto en una cantidad de entre 10 mg y 20 mg. En algunas realizaciones la dosis es de 10 mg. En algunas realizaciones la

- dosis es de 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg, 16 mg, 17 mg, 18 mg, 19 mg o 20 mg. En algunas realizaciones particulares, la dosis es de 15 mg. En algunas realizaciones, cualquiera de las dosis mencionadas se administra mediante inyección intravítreo en un volumen de entre 90 y 110 microlitros, por ejemplo, en un volumen de 100 microlitros. En algunas realizaciones, cualquiera de las dosis mencionadas se administra mediante inyección intravítreo utilizando una aguja de calibre 27, 28, 29 o 30. En un ensayo clínico de fase 1b, se observó que las dosis de hasta 20 mg (es decir, 5 mg, 10 mg y 20 mg) en un volumen de 100 microlitros administradas mediante inyección intravítreo utilizando una aguja de calibre 29 fueron bien toleradas por los pacientes con DMAE. En ciertas realizaciones se selecciona una combinación de dosis y calibre de aguja que permite la administración por inyección intravítreo en 10 segundos o menos. En ciertas realizaciones se utiliza una combinación de dosis y aguja que permite la administración de la dosis mediante inyección IVT en 5 - 6 segundos, o menos. Se descubrió que una dosis de 15 mg en un volumen de 100 microlitros (150 mg/ml) da como resultado una composición que tiene una viscosidad favorable para la administración por inyección intravítreo en 5-6 segundos o menos mediante una aguja de pared fina de calibre 27.
- En ciertas realizaciones, una dosis de una composición que comprende una ACAP se administra por inyección intravítreo en un volumen superior a 100 microlitros. Por ejemplo, puede utilizarse un volumen de 100 - 110 microlitros, 110 - 125 microlitros o 125 - 150 microlitros. Tales volúmenes mayores pueden permitir la administración de una dosis más alta en comparación con un volumen de inyección de 100 microlitros, sin un aumento del tiempo necesario para administrar la dosis y/o sin requerir el uso de una aguja de menor calibre (diámetro más ancho). Dicho aumento de la dosis total puede ser proporcional al aumento del volumen. Por ejemplo, un aumento del volumen de la dosis del 50% permitiría un aumento del 50% en la cantidad de ACAP administrada sin un aumento del tiempo necesario para administrar la dosis y/o sin requerir el uso de una aguja de menor calibre.
- En algunas realizaciones, una dosis de una composición que comprende la ACAP se administra mediante inyección IVT una vez al mes, cada 6 semanas o cada 2 meses (es decir, cada dos meses). En algunas realizaciones una dosis de una composición que comprende la ACAP se administra por inyección IVT cada 3 meses, cada 4 meses, cada 5 meses, o cada 6 meses, o con menos frecuencia, por ejemplo, cada 9 meses, cada año. Así, en algunas realizaciones, un paciente puede recibir entre 1 y 6 inyecciones al año, normalmente a intervalos aproximadamente iguales. En algunas realizaciones, un paciente se trata inicialmente con inyecciones mensuales (por ejemplo, durante los primeros 3 - 6 meses o los primeros 6 - 12 meses), seguidas de una administración menos frecuente (por ejemplo, cada 2, 3, 4, 5 o 6 meses, o con menos frecuencia, por ejemplo, cada 9 meses, cada año).
- En algunas realizaciones, el tratamiento con la ACAP mediante inyección IVT según cualquiera de los regímenes de dosificación mencionados puede continuarse indefinidamente. En algunas realizaciones, un paciente puede ser tratado con un ciclo corto de tratamiento (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 inyecciones IVT). En algunas realizaciones, un ciclo corto de tratamiento puede ser suficiente para detener o detener sustancialmente la progresión de un trastorno (por ejemplo, la DMAE, por ejemplo, la AG o la DMAE temprana o intermedia), de forma que no sea necesario un tratamiento posterior. Por ejemplo, un ciclo corto de tratamiento con la ACAP puede ser suficiente para interrumpir un ciclo que perpetúa una respuesta inmunitaria contra la retina o el epitelio pigmentario de la retina.
- En algunas realizaciones, la ACAP se administra utilizando una jeringa con una o más características de diseño que reducen la fricción y/o la fuerza de inyección requerida, como un barril relativamente corto y/o un émbolo de tamaño relativamente grande.
- En experimentos realizados con ACAP que comprenden PEG de diferentes pesos moleculares, se determinó que una solución de ACAP que comprende un PEG de menor peso molecular (por ejemplo, 10 kD - 30 kD) tiene una viscosidad reducida en comparación con una ACAP que comprende un PEG de 40 kD a la misma concentración en mg/ml. La menor viscosidad puede facilitar el uso de una aguja de mayor número de calibre (por ejemplo, de calibre 29 en lugar de 27). Una ACAP que comprenda un polímero, por ejemplo un PEG, con un peso molecular inferior a 40 kD puede administrarse utilizando una aguja con un diámetro interior menor y/o un número de calibre mayor que una ACAP que comprenda un polímero, por ejemplo un PEG, con un peso molecular de 40 kD o más. Una ACAP que comprenda un polímero, por ejemplo, un PEG, que tenga un peso molecular inferior a 40 kD puede administrarse a una concentración entre 80 mg/ml y 150 mg/ml, por ejemplo, unos 100 mg/ml o unos 125 mg/ml. Una ACAP que comprenda un polímero, por ejemplo un PEG, con un peso molecular inferior a 40 kD puede administrarse a una concentración entre 150 mg/ml y 250 mg/ml. Una ACAP que comprenda un polímero, por ejemplo, un PEG, que tenga un peso molecular inferior a 40 kD (por ejemplo, 10 kD - 35 kD) puede administrarse a una concentración superior a 250 mg/ml, por ejemplo, hasta 300 mg/ml, 300 mg/ml - 400 mg/ml, 400 mg/ml - 500 mg/ml, o más.
- Una ACAP que comprenda un CRM (por ejemplo, un PEG, POZ, polipéptido u otro polímero) con un peso molecular inferior a unas 40 kD (por ejemplo, 10 kD- 35 kD) y un número especificado de moléculas análogas de compstatina (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) puede administrarse en aproximadamente la misma dosis en términos de moles que cualquiera de las cantidades descritas anteriormente con respecto a un ACAP que comprenda un MRC que tenga un peso molecular de aproximadamente 40 kD, lo que da como resultado una dosis inferior en peso pero que contenga aproximadamente el mismo número de moléculas análogas de compstatina. La administración de una cantidad total menor de compuesto por dosis (en peso) puede permitir un volumen de dosificación reducido. Un volumen de dosificación reducido puede permitir un número reducido de inyecciones (por ejemplo, una única inyección diaria en

lugar de dos inyecciones diarias) y/o puede permitir un tiempo de inyección reducido (duración de la administración de una dosis individual). Una dosis total más baja (en peso) puede permitir el uso de una concentración más baja (en peso) de compuesto en un volumen dado, lo que da lugar a una viscosidad reducida, permitiendo el uso de una aguja con un diámetro interior más pequeño y/o un tiempo de inyección más corto. Una ACAP que comprenda un CRM (por ejemplo, un PEG, POZ, polipéptido u otro polímero) con un peso molecular inferior a unos 40 kD (por ejemplo, 10 kD- 30 kD) y un número determinado de moléculas análogas de compstatina (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) puede administrarse a una dosis molar mayor que una ACAP que comprenda un CRM con un peso molecular de unos 40 kD, lo que da lugar a la administración de un mayor número de moléculas análogas de compstatina por dosis. La dosis molar puede ser hasta 1,2, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 o 5 veces mayor dependiendo, por ejemplo, del peso molecular del CRM.

5 Una ACAP que comprenda un CRM (por ejemplo, un PEG, POZ, polipéptido u otro polímero) con un peso molecular inferior a unas 40 kD (por ejemplo, 10 kD- 35 kD) y un número especificado de moléculas análogas de compstatina (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) puede administrarse a una dosis inferior (en peso) por unidad de tiempo (por ejemplo, dosis diaria más baja, dosis semanal más baja, dosis mensual más baja, etc.), aproximadamente la misma dosis por unidad de tiempo, o una dosis más alta por unidad de tiempo que una dosis descrita anteriormente con respecto a una ACAP que comprenda un CRM que tenga un peso molecular de aproximadamente 40 kD. Una dosis (en peso), de una ACAP que comprenda un MRC que tenga un peso molecular inferior a unos 40 kD (por ejemplo, 10 kD- 30 kD) puede ser inferior o superior en un factor de hasta aproximadamente 3 (por ejemplo, aproximadamente 1,1, 1,2, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0) en relación con una dosis diaria de una ACAP que comprenda un MRC de 40 kD.

10 Una ACAP que comprenda un CRM (por ejemplo, un PEG, POZ, polipéptido u otro polímero) con un peso molecular inferior a unas 40 kD (por ejemplo, 10 kD- 35 kD) y un número especificado de moléculas análogas de compstatina (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) puede administrarse a una dosis inferior (en peso) por unidad de tiempo (por ejemplo, dosis diaria más baja, dosis semanal más baja, dosis mensual más baja, etc.), aproximadamente la misma dosis por unidad de tiempo, o una dosis más alta por unidad de tiempo que una dosis descrita anteriormente con respecto a una ACAP que comprenda un CRM que tenga un peso molecular de aproximadamente 40 kD. Una dosis (en peso), de una ACAP que comprenda un MRC que tenga un peso molecular inferior a unos 40 kD (por ejemplo, 10 kD- 30 kD) puede ser inferior o superior en un factor de hasta aproximadamente 3 (por ejemplo, aproximadamente 1,1, 1,2, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0) en relación con una dosis diaria de una ACAP que comprenda un MRC de 40 kD.

15 20 La invención abarca la administración de un análogo de compstatina en combinación con terapia adicional. Dicha terapia adicional puede incluir la administración de cualquier agente o agentes usados en la técnica o potencialmente útiles para tratar a un sujeto que padece la enfermedad. Por ejemplo, puede administrarse un ACAP en combinación con un inhibidor de C5 (p. ej., eculizumab o cualquiera de los otros inhibidores de C5 mencionados en el presente documento o conocidos en la técnica) a un paciente, p. ej., un paciente con HPN o cualquiera de los otros trastornos mediados por el complemento mencionados en el presente documento. Puede administrarse un ACAP en combinación con un agente anti-factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) a un sujeto con DMAE húmeda. Los agentes anti-VEGF incluyen anticuerpos que se unen al VEGF, tales como ranibizumab (Lucentis) y bevacizumab (Avastin), polipéptidos que comprenden una porción soluble de receptor de VEGF, tal como afiblertcept (Eylea, también conocido como VEGF-Trap).

25 30 35 40 45 Cuando dos o más terapias (p. ej., compuestos o composiciones) se usan o administran "en combinación" entre sí, se pueden proporcionar al mismo tiempo, en períodos de tiempo solapantes o secuencialmente (p. ej., separados por hasta 2 semanas en el tiempo, o más, p. ej., separados por hasta aproximadamente 4, 6, 8 o 12 semanas en el tiempo). Se pueden administrar a través de la misma vía o vías diferentes. Los compuestos o las composiciones pueden administrarse en un intervalo de 48 horas entre sí. Se puede proporcionar un análogo de compstatina antes o después de la administración del (de los) compuesto(s) adicional(es), p. ej., suficientemente cerca en el tiempo para que el análogo de compstatina y el(los) compuesto(s) adicional(es) estén presentes en niveles útiles dentro del cuerpo al menos una vez. Los compuestos o las composiciones pueden administrarse suficientemente cerca en el tiempo para que no más del 90 % de la primera composición administrada se haya metabolizado a metabolitos inactivos o se haya eliminado, p. ej., secretado, del cuerpo, en el momento en que se administra el segundo compuesto o composición.

45 50 55 60 Puede administrarse una composición que incluye tanto el análogo de compstatina de acción prolongada como compuestos adicionales. Un sujeto que recibe tratamiento o que se está tratando con un análogo de compstatina utilizando, p. ej., administración inhalada o administración parenteral mediante, p. ej., inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa, puede vacunarse contra uno o más patógenos. Por ejemplo, el sujeto puede recibir una vacuna contra *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y/o *Streptococcus pneumoniae*. Un sujeto puede vacunarse contra estos tres microorganismos. Un sujeto puede recibir la vacuna al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 semanas antes de la primera dosis de un análogo de compstatina. El sujeto puede recibir una o más dosis adicionales de la vacuna si es adecuado. Un sujeto que se trata o que va a tratarse con un análogo de compstatina utilizando, p. ej., administración inhalada o administración parenteral mediante, p. ej., inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa, puede recibir un antibiótico que se espera que sea eficaz para prevenir o limitar la infección por uno o más patógenos, p. ej., *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y/o *Streptococcus pneumoniae*. El sujeto puede recibir un antibiótico profilácticamente. La administración profiláctica puede comenzar antes de que el sujeto reciba la primera dosis de un análogo de compstatina o en cualquier momento posteriormente. Los expertos habituales en la materia conocen estos antibióticos.

65 60 Cualquiera de los ejemplos que quedan fuera del alcance de las reivindicaciones adjuntas se proporcionan como referencia.

Ejemplos

65 **Ejemplo 1: Desarrollo de análogos de compstatina PEGilados que conservan actividad inhibidora del**

complemento sustancial

Se sintetizó un análogo de compstatina que tiene la secuencia de aminoácidos del análogo de compstatina de la SEQ ID NO: 28, pero que incorpora un resto de AEEAc-Lys ubicado en dirección C-terminal del residuo Thr de la SEQ ID

5 NO: 28 para fines de conjugación posterior de un PEG activado con éster de NHS con el grupo amino de la cadena lateral de Lys. El compuesto se sintetizó usando métodos convencionales. En resumen, se obtuvieron aminoácidos (incluyendo AEEAc) como aminoácidos protegidos por Fmoc, en los que el grupo α -amino de cada aminoácido estaba protegido con Fmoc. Los grupos funcionales de cadena lateral también se bloquearon con diversos grupos protectores adecuados. Se realizó síntesis siguiendo la metodología de fase sólida descrita por Merrifield (J. Amer. Chem. Soc. 10 85, 2149 (1963)). Se realizó ensamblaje de cadena en fase sólida, a cuyo término se acetiló el extremo N; después el péptido se escindió de la fase sólida y se desprotegió simultáneamente mediante acidólisis usando TFA y se amidó. Después el péptido lineal se oxidó y se purificó. El análogo de compstatina resultante se representa de la siguiente manera Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-AEEAc-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 51), abreviado como CA28-AEEAc-Lys. Obsérvese que, por razones de brevedad, el grupo acetilo N-terminal y los grupos 15 amino C-terminales se omiten en esta abreviatura. Se acoplaron PEG monofuncionales, lineales activados con éster de NHS con pesos moleculares de 30 kD y 40 kD (NOF America Corp. White Plains, NY, Cat. n.º SUNBRIGHT® ME-300GS y Cat. n.º SUNBRIGHT® ME-400GS), respectivamente, a la cadena lateral de lisina de CA28-AEEAc-Lys, dando como resultado análogos de compstatina de acción prolongada representados de la siguiente manera: CA28-AEEAc-Lys-(PEG30k) y CA28-AEEAc-Lys-(PEG40k), y se purificaron. Obsérvese que el número después del término 20 "PEG" y que precede a la letra "k" representa el peso molecular del resto de PEG en kilodaltons y la "k" es una abreviatura de kD). CA28-AEEAc-Lys-(PEG30k) también se denomina CA28-1. CA28-AEEAc-Lys-(PEG40k) también se denomina CA28-2.

25 Se evaluó la actividad inhibidora de los compuestos sintetizados midiendo el efecto de los compuestos sobre la activación del complemento a través de la ruta clásica usando un ensayo de inhibición del complemento convencional. El protocolo mide el depósito de C3b en un formato ELISA. Se genera depósito de C3b supervisado usando este método a través del complemento activado por la ruta clásica. En resumen, se recubren placas de 96 pocillos con BSA. Se añaden plasma humano, ovoalbúmina de pollo (OVA), anticuerpos policlonales anti-OVA y el compuesto que se prueba (denominado "fármaco") y se incuban, seguido de la adición de anticuerpo anti-C3 humano conjugado con 30 HRP. Después de una incubación adicional, se añade sustrato y se detecta la señal. Los detalles del protocolo son los siguientes:

Protocolo para el ensayo de inhibición del complemento clásico

35 Materiales:

- Placa de noventa y seis pocillos (placa de poliestireno, Thermo Scientific, 9205)
- OVA de pollo (Sigma A5503-5G)
- Conejo anti-OVA pollo (Abcam ab1221)
- 40 • Tampón de bloqueo (tampón Startingblock, Thermo Scientific 37538)
- Tampón Veronal (concentración 5X, Lonza 12-624E)
- Plasma humano (recogido con lepirudina a una concentración final de 50 ug/ml)
- Ab de cabra conjugado con HRP anti-C3 humano (MP Biomedicals, 55237)
- Tampón de lavado de Tween-20 (tampón de PBS-Tween 20 0,05 %)
- 45 • TMB (sustrato de peroxidasa, BD 555214) - mezcla 1:1 de BD 51-2607KC y 51-2606KC.
- H₂SO₄ 1 M

Protocolo:

- 50 1. Añadir 100 ul/pocillo de OVA de pollo al 1 % (en PBS)
 2. Incubar durante una noche a 4 °C o a temperatura ambiente durante 1-2 horas.
 3. Retirar agitando y golpeando la placa.
 4. Bloquear añadiendo 200 ul de tampón de bloqueo
 5. Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente
 55 6. Retirar agitando y golpeando la placa
 7. Añadir 100 ul de dilución 1:1000 de polyclonal anti-OVA de pollo en tampón de bloqueo
 8. Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente
 9. Lavar dos veces con tampón de lavado
 10. Añadir 50 ul de VB⁺⁺ a los pocillos n.º 2 a 12
 60 11. Añadir 100 ul de dilución inicial del fármaco (2X en VB⁺⁺) al pocillo 1.
 12. Diluir en serie (1:2) el fármaco de los pocillos 1 a 10 de la siguiente manera
- 65 a. Tomar 50 ul de solución del pocillo de origen
 b. Añadir esta al siguiente pocillo
 c. Mezclar pipeteando varias veces
 d. Repetir hasta el pocillo n.º 10

Nota: del pocillo n.º 10 retirar 50 ul y desechar.

13. Añadir 50 ul de dilución de plasma 2X (dilución 1:37,5 del plasma original) a los pocillos 1 a 11

14. Incubar durante 1 hora

5 15. Lavar con tampón de lavado

16. Añadir 100 ul de dilución 1/1000 de Ab anti-C3-HRP en tampón de bloqueo

17. Incubar durante 1 hora

18. Lavar con tampón de lavado

19. Añadir 100 ul de TMB a todos los pocillos

10 20. Incubar durante 5-10 minutos en la oscuridad

21. Añadir 50 ul de H₂SO₄ 1 M

22. Leer la placa a 450 nm

VB⁺⁺

15

Fórmula:

Barbital	5 mM
NaCl	72,5 mM
MgCl ₂	0,5 mM
CaCl ₂	0,15 mM
pH 7,4	

Soluciones de reserva:

20

Tampón Veronal (5X)

	N.º de prod	PM	Para 500 ml
Barbital de sodio 9 mM	Sigma B0500	206,17	927 mg
Ácido dietilbarbitúrico 15,5 mM	Sigma B0375	184,19	1,42 gramos

Mg-C12 (200X)

25

	N.º de prod	PM	Para 50 ml
MgCl ₂ ·6H ₂ O 100 mM	Sigma M0250	203,30	1,00 gramos

CaCl₂ (500X)

	N.º de prod	PM	Para 50 ml
CaCl ₂ 75 mM	Sigma C7902	147,01	551,28 mg

30 **Para preparar 50 ml de tampón de trabajo:**

• Pesar 210 mg de NaCl

• Añadir 10 ml de VB 5X

• Añadir 100 ul de CaCl₂ (500X)

35 35. • Añadir 250 ul de MgCl (200X)

• Ajustar el volumen a 50 ml con H₂O

• Ajustar el pH a 7,4

40 Los datos se analizaron usando el software GraphPad Prism5. Los conjuntos de datos de cada experimento se normalizaron con respecto al porcentaje de activación en comparación con el control de activación del 100 % correspondiente al pocillo al que no se añade ningún compuesto. Los valores de concentración de fármaco (valores X) se transformaron a sus logaritmos y el porcentaje de activación (Pa) (valores Y) se transformó en porcentaje de inhibición (Pi) usando la siguiente fórmula $Pi=100-Pa$ ($Yi=100-Ya$). El porcentaje de inhibición se representó frente a la concentración del fármaco y el conjunto de datos resultante se ajustó a una función de respuesta a la dosis sigmoidal $[Y=Inferior+(Superior-Inferior)/(1+10^{((Log EC-X))})]$. Se obtuvieron valores de IC_{50} de los parámetros de ajuste.

45 Los resultados se presentan en la figura 1 y los valores de IC_{50} se muestran en la tabla 2 (en el ejemplo 2). Como se

indica, CA28-1 y CA28-2 presentaron aproximadamente 30 % de la actividad de CA28 en molaridad.

Ejemplo 2: Desarrollo de análogos de compstatina de acción prolongada que demuestran mayor actividad molar

5 PEG activado con éster de NHS de ocho ramas con peso molecular de 40 kD (NOF America Corp. White Plains, NY, Cat. n.º SUNBRIGHT® HGEO-400GS; fórmula química: hexaglicerol octa(succinimidoxiglutaril)polioxietileno) se acopló a la cadena lateral de lisina de CA28-AEEAc-Lys, dando como resultado análogos de compstatina de acción prolongada representados de la siguiente manera: (CA28-AEEAc)₈-PEG40k, también denominado CA28-3. La actividad inhibidora del complemento de CA28-3 se probó usando el ensayo descrito en el ejemplo 1. Los resultados se representan en la figura 1 y el valor de Cl50 se enumera en la tabla 2, ambos en función de la concentración de CA28. La concentración de CA28 se calculó usando el coeficiente de extinción de CA28 a 283 nm (10208,14 l·mol⁻¹ cm⁻¹). Basándose en otro análisis (absorción UV frente a masa de material y análisis elemental del % de CHN) se concluyó que hay 7,5 restos de CA28 por molécula de CA28-3. Por tanto, la actividad de CA28-3 en molaridad es 7,5 veces mayor que la mostrada en la figura 1 y la tabla 2. Por tanto, el valor de Cl50 en la tabla 2 es 7,5 veces mayor que la Cl50 real de CA28-3 en molaridad. La Cl50 de CA28-3 en molaridad se calcula como aproximadamente 0,26 (menor que la del compuesto original CA28). La figura 2 muestra el porcentaje de actividad inhibidora de la activación del complemento de CA28 y los análogos de compstatina de acción prolongada CA28-2 y CA28-3, en función de la concentración de CA28-3 (μM), es decir, la actividad de CA28-3 se ha corregido para tener en cuenta el hecho de que 10 el compuesto contiene 7,5 restos de CA28. En molaridad, la actividad inhibidora del complemento de CA28-3 supera 15 la de CA28.

20

Tabla 2

	CA28	CA28-1	CA28-2	CA28-3
Cl50	0,3909	1,264	1,288	1,927

25 Se observó que la solubilidad de CA28-1, CD28-2 y CA28-3 en agua con o sin diversas sustancias tamponantes y/o excipientes superaba la del compuesto original CA28.

Ejemplo 3: Análogos de compstatina de acción prolongada que demuestran aumento drástico de semivida y Cmáx en plasma

30 Este ejemplo describe la determinación de parámetros farmacocinéticos de análogos de compstatina de acción prolongada CA28-2 y CA28-3 después de su administración a monos cinomolgos.

Dosificación y recogida de muestras

35 Se administraron CA28-2 y CA28-3 en el momento 0 mediante inyección intravenosa en monos cinomolgos hembra (tres por grupo, 2-5 años de edad, 2,9-3,5 kg). Los compuestos se administraron a 50 mg/kg en dextrosa al 5 % en agua a una concentración de 25 mg/ml. Se recogieron muestras de ensayo de sangre (~1 ml cada una) de la vena femoral en los siguientes puntos temporales: Predosis, 5 min, 15 min, 30 min, 1 hora (h), 4 h, 8 h, 24 h, 48 h, 96 h (4 días) y 192 h (8 días) después de la dosis. Se recogieron muestras de ensayo mediante venopunción directa y se colocaron en un tubo de suero de tapón rojo que no contenía anticoagulante y se mantuvieron a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos. Las muestras de sangre se centrifugaron a una temperatura de 4 °C a 3000 x g durante 5 minutos. Las muestras se mantuvieron refrigeradas durante todo el procesamiento. Se recogieron muestras de suero después de la centrifugación y se colocaron en tubos de muestra. Las muestras se almacenaron en un congelador ajustado para mantener de -60 °C a -80 °C. Todos los animales mostraron actividad normal durante todo el estudio. No se observaron anomalías relacionadas con los compuestos en los animales durante todo el estudio.

40 Análisis de las muestras. Las muestras de plasma obtenidas como se ha descrito anteriormente se analizaron mediante LC/MS/MS usando los siguientes métodos para determinar la concentración del compuesto: se mezclaron 50 μl de muestra con patrón interno (CA28-AEEAc-Arg) y después se añadieron 100 μl de NH₄OAc 1 M, pH 3,5 con HOAc y se mezclaron. Después se añadieron 250 μl de acetonitrilo y se mezclaron. La muestra se centrifugó y el sobrenadante se vertió en otro tubo y se secó. La muestra se reconstituyó y se inyectó en el sistema de LC/MS/MS. La fase móvil A fue NH₄OAc 5 mM con FA al 0,1 % y la fase móvil B fue 90:10 (ACN:NH₄OAc 50 mM) con FA al 0,1 %. La columna LC fue la Entrada WP-RP de 2x150 mm, 3 μ. La cuantificación se realizó en un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo API-4000 de Applied Biosystems operado en modo de ion positivo. Se usó disociación inducida por colisión en la fuente (CID) para fragmentar el compuesto en la fuente del espectrómetro de masas y el ion *m/z* 144 se seleccionó por masa en Q1, se fragmentó y la masa de iones *m/z* 77 se seleccionó en Q3 y se detectó. Los datos se procesaron usando el software Analyst 1.4.2.

45 55 60 Resultados. Las concentraciones en suero en microgramos/ml de CA28-2 y CA28-3 en cada punto temporal se presentan en la tabla 3 a continuación. Se muestran datos para cada uno de 3 monos que recibieron el compuesto indicado. Los valores promedio y las desviaciones típicas se calculan fácilmente. Hubo notable uniformidad entre los animales. CA28 son datos históricos obtenidos en un estudio previo en el que se administró CA28 por vía intravenosa a monos cinomolgos. En ese estudio, se detectó CA28 en muestras usando HPLC.

Tabla 3
Concentración en suero en ug/ml

Tiempo (días)	CA28-3 (PEG 40k de 8 ramas) (50 mg/kg)	CA28 (200 mg/kg)	CA28-2 (PEG 40k lineal) (50 mg/kg)		
0,0035	1600	1330	1300	1460	1660
0,01	1600	1220	1480	1360	1430
0,02	1510	1170	1270	1310	1510
0,042	1270	1030	1220	1290	1340
0,167	926	893	934	1200	1210
0,333	797	714	792	1190	1180
1	621	479	558	927	853
2	384	355	360	612	733
4	280	252	262	461	458
8	151	136	136	268	282

5 Los resultados para cada compuesto se promediaron y se representan en la figura 3. Se observó un aumento notable de la semivida y la Cmáx tanto para CA28-2 como para CA28-3 en comparación con CA28. Las semividas terminales de CA28-2 y CA28-3 fueron de aproximadamente 4 - 4,5 días. Según estos datos, se espera que la administración intravenosa a intervalos de dosificación de aproximadamente 1-2 semanas proporcione niveles constantes de compuesto e inhiba eficazmente la activación del complemento en sujetos humanos, aunque pueden usarse intervalos de dosificación más cortos o más largos.

10 **Ejemplo 4: Análogo de Compstatina de acción prolongada que comprende HSA como un resto reductor de la eliminación**

15 Se convirtieron lisinas de cadena lateral de seroalbúmina humana (HSA) en tioles usando 2-iminotiolano y se hicieron reaccionar con un análogo de compstatina que comprendía una maleimida como grupo funcional reactivo: Ac-Ile-Cys*-Val-Trp(1-Me)-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-AEEAc-Lys-(C(=O)-(CH₂)₅-Mal)-NH₂ (SEQ ID NO: 68). Se probó el análogo de compstatina de acción prolongada resultante (CA28-4) *in vitro* para determinar la actividad inhibidora del complemento (figura 4) como se ha descrito en el ejemplo 1 e *in vivo* para determinar las propiedades farmacocinéticas como se ha descrito en el ejemplo 3. Los parámetros farmacocinéticos de CA28-4 después de la 20 administración a monos cinomolgos se determinaron como se ha descrito en el ejemplo anterior. Los resultados se muestran en la figura 5 (junto con los resultados para CA28, CA28-1, CA28-2 y CA28-3). Los datos de PK para CA28-4 se presentan en la tabla 4.

Tabla 4
Concentración en suero en ug/ml

Tiempo (h)			
0,0035	1790,0	1445,00	1395,00
0,0100	1195,0	915,50	885,00
0,0200	900,0	504,50	553,50
0,0420	449,0	267,50	295,00
0,1670	194,0	164,00	158,50
0,3330	150,0	163,00	119,50
1,0000	97,2	86,00	78,05
2,0000	73,3	51,55	57,40
4,0000	43,1	29,20	34,15
8,0000	24,1	16,25	20,00

25 **Ejemplo 5: Síntesis y actividad de análogos de compstatina basados en PEG usando diferentes PEG activados por NHS**

30 Un análogo de compstatina que tiene la secuencia de aminoácidos del análogo de compstatina de la SEQ ID NO: 28, pero que incorpora un resto de AEEAc-Lys ubicado en dirección C-terminal al residuo Thr de la SEQ ID NO: 28 para fines de conjugación posterior de un PEG activado por éster de NHS con el grupo amino de la cadena lateral de Lys se sintetizó como se ha descrito en el ejemplo 1. El análogo de compstatina resultante se representa de la siguiente manera Ac-Ile-Cys*-Val-(1Me)Trp-Gln-Asp-Trp-Gly-Ala-His-Arg-Cys*-Thr-AEEAc-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 51), abreviado como CA28-AEEAc-Lys. Se acoplaron PEG de éster/carbonato monofuncionales, activados por mono-metoxi-NHS lineales con pesos moleculares de 40 kD y diferentes con respecto a la química de unión de carboxilato de NHS (NOF America Corp. White Plains, NY, Cat. n.º SUNBRIGHT® ME-400CS, SUNBRIGHT® ME-400GS, SUNBRIGHT® ME-400HS, SUNBRIGHT® ME-400TS) con la cadena lateral de lisina de CA28-AEEAc-Lys a través de un enlace amida. (El residuo Lys es Lys15 ya que el conector AEEAc contiene un residuo de aminoácido). Todos los compuestos estaban acetilados en el extremo N, amidados en el extremo C y ciclados a través de un enlace disulfuro entre Cys2 y Cys12. (La acetilación, amidación y ciclación se realizaron antes del acoplamiento con el PEG).

Los compuestos se prepararon como sales de trifluoroacetato y se purificaron. Los compuestos se representan como se muestra en la siguiente tabla (tabla 5). Las letras CS, GS, HS y TS representan los diferentes restos conectores entre el resto de PEG y el resto de NHS como se indica con más detalle en la tabla 5. Se entenderá que diversos nombres y abreviaturas para cada compuesto pueden usarse indistintamente. Obsérvese que CA28-2 (véase el ejemplo 1) es el mismo que CA28-2GS.

5

Tabla 5: Análogos de compstatina basados en PEG que contienen un resto análogo de compstatina

Abreviatura e ID del compuesto	Nombre del compuesto ^{*†}	PEG activado
CA28-2CS	CA28-AEEAc-LysCS = CA28-AEEAc-Lys (mPEG40K-succinilo)	PEG40K: Metoxi-PEG-CO(CH ₂) ₂ COO-NHS (NOF Sunbright 400CS) Nombre químico: α -succinimidiloxisuccinil- ω -metoxi, polioxietileno N.º de CAS: 78274-32-5
CA28-2GS (también denominado CA28-2)	CA28-AEEAc-LysGS CA28-AEEAc-Lys (mPEG40K-pantanodioílo)	PEG40K: Metoxi-PEG-CO(CH ₂) ₃ COO-NHS (NOF Sunbright 400GS) Nombre químico: α -succinimidiloxiglutaril- ω -metoxi, polioxietileno N.º de CAS: 111575-54-3
CA28-2HS	CA28-AEEAc-LysHS CA28-AEEAc-Lys (mPEG40K-hexanoílo)	PEG40K: Metoxi-PEG-(CH ₂) ₅ COO-NHS (NOF Sunbright 400HS) Nombre químico: Poli(oxi-1,2-etanodiilo), α -metil- ω -{2-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxi]-6-oxohexiloxi}-
CA28-2TS	CA28-AEEAc-LysTS CA28-AEEAc-Lys (mPEG40K-carbonilo)	PEG40K: Metoxi-PEG-COO-NHS (NOF Sunbright 400TS) Nombre químico: α -succinimidil carbonil-co-metoxi, polioxietileno N.º de CAS 135649-01-3

^{*}AEEAc=8=amino-3,6-dioxa-octanoílo[†]Los compuestos se prepararon como sales de trifluoroacetato, pero podrían usarse otros contraíones

Los compuestos se analizaron mediante HPLC de fase inversa. La figura 6 muestra un cromatograma representativo para uno de los compuestos. Se usó una columna VariTide RPC. El eluyente A fue TFA al 0,1 % en agua; El eluyente B fue TFA al 0,1 % en 50 % de CAN/40 % de agua. El caudal fue de 1.000 ml/min con un gradiente de 0 % de B a 100 % de B durante 40 minutos. El pico con un tiempo de retención de 33,68 minutos representa el compuesto PEGilado y tiene un área relativa de 96,50 %.

Se evaluó la actividad inhibidora de los compuestos midiendo el efecto de los compuestos sobre la activación del complemento a través de la ruta clásica usando un ensayo de inhibición del complemento convencional como se ha descrito en el ejemplo 1. Los resultados se representan en la figura 7. Estos resultados representan una combinación de dos experimentos separados. Los compuestos mostraron actividad inhibidora del complemento notablemente similar.

20

Ejemplo 6: Síntesis y actividad de análogos de compstatina bifuncionalizados basados en PEG

Se obtuvieron PEG de éster/carbonato bifuncionales, activados con monometoxi-NHS lineales con pesos moleculares de 40 kD y que difieren con respecto a la química de unión de carboxilato de NHS de NOF America Corp. (White Plains, NY). Los PEG activados se acoplaron con la cadena lateral de lisina de CA28-AEEAc-Lys a través de un enlace de amida de modo que se acoplaron dos restos de CA28-AEEAc-Lys a cada cadena de PEG. Todos los compuestos se acetilaron en el extremo N y se amidaron en el extremo C de los restos de CA28-AEEAc-Lys y se ciclaron mediante un enlace disulfuro entre Cys2 y Cys12. (La acetilación, amidación y ciclación se realizaron antes del acoplamiento con el PEG). Los compuestos se prepararon como sales de acetato y se purificaron. Los compuestos se representan como se muestra en la siguiente tabla (tabla 6).

30

Tabla 6: Análogos de compstatina bifuncionalizados basados en PEG

Abreviatura e ID del compuesto	Nombre del compuesto ^{*†}	PEG activado
CA28-2CS-BF	CA28-AEEAc-LysCS = CA28-AEEAc-Lys (mPEG40K-succinilo)	PEG40K: NHS-OCO(CH ₂) ₂ COO-PEG-CO(CH ₂) ₂ COO-NHS Nombre químico: α -succinimidiloxisuccinil- ω -succinimidiloxisucciniloxi, polioxietileno N.º de CAS: 85419-94-9
CA28-2GS-BF	CA28-AEEAc-LysGS CA28-AEEAc-Lys (mPEG40K-pantanodioílo)	PEG40K: NHS-OCO(CH ₂) ₃ COO-PEG-CO(CH ₂) ₃ COO-NHS Nombre químico: α -succinimidiloxiglutaril- ω -succinimidiloxiglutariloxi-, polioxietileno N.º de CAS: 154467-38-6

(Continuación)

Abreviatura e ID del compuesto	Nombre del compuesto*†	PEG activado
CA28-2HS-BF	CA28-AEEAc-LysHS CA28-AEEAc-Lys (mPEG40K-hexanoílo)	PEG40K: NHS-OCO(CH ₂) ₅ O-PEG-(CH ₂) ₅ COO-NHS Nombre químico: α -[6-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxi]-6-oxohexil]- ω -[6-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxil-6-oxohexiloxi]-, polioxietileno
CA28-2TS-BF	CA28-AEEAc-LysTS CA28-AEEAc-Lys (mPEG40K-carbonilo)	PEG40K: NHS-OCO-PEG-COO-NHS Nombre químico: α -succinimidil carbonil-co-succinimidil carbonilo, polioxietileno

*AEEAc=8-amino-3,6-dioxa-octanoílo
†Los compuestos se prepararon como sales de acetato, pero podrían usarse otros contraíones

La actividad inhibidora de CA28-2GS-BF se evaluó midiendo el efecto del compuesto sobre la activación del complemento mediante la ruta clásica usando un ensayo de inhibición del complemento convencional como se ha descrito en el ejemplo 1 y analizado como se ha descrito en el ejemplo 1. Los resultados se representan en la figura 8. Como se ha descrito anteriormente, CA28-2GS-BF contiene dos restos análogos de compstatina por molécula. Aunque la actividad por resto análogo de compstatina de CA28-2GS-BF es menor que la actividad de una molécula de CA28 individual, la actividad de los dos compuestos en molaridad es prácticamente idéntica en un amplio intervalo de concentraciones.

10 Ejemplo 7: Administración subcutánea de análogo de compstatina bifuncionalizada basada en PEG

Este ejemplo describe la determinación de parámetros farmacocinéticos del análogo de compstatina CA28-2GS-BF de acción prolongada después de la administración a monos cinomolgos, ya sea a través de una única inyección intravenosa (IV) o con la administración subcutánea repetida (una vez al día) durante siete días.

20 **Dosificación y recogida de muestras** Se administró CA28-2GS en el momento 0 mediante inyección intravenosa o mediante inyección subcutánea repetida (diariamente, durante siete días) en monos cinomolgos machos. Se usaron en el estudio seis monos cinomolgos machos previamente expuestos, de edad 1-5 años, cuyo peso varía entre 4,6 y 5,3 kilogramos (tres por grupo). Los animales estaban sanos al comienzo de la prueba. Siete días. El estudio no tuvo ocultación. Se proporcionó a los animales agua a voluntad y una dieta comercial dos veces al día antes del inicio del estudio. Se proporcionó comida a los animales según el PNT de la instalación antes del estudio. Los animales no se sometieron a ayunas. Los animales se dosificaron mediante administración intravenosa y subcutánea en el momento 0 el día adecuado. Se usó una aguja de calibre de tamaño 22 para la administración subcutánea. El compuesto se administró a 50 mg/kg en dextrosa al 5 % en agua a una concentración de 25 mg/ml. Se recogieron muestras de ensayo de sangre (~1 ml cada una) de la vena femoral en los siguientes puntos temporales: Día 1: Predosis, 5 min, 15 min, 30 min, 1 hora (h), 4 h, 8 h. Días 2 - 9: 0 min. Día 16: Muestra final basada en la dosificación del día 1. Cada muestra de sangre (-1,0 ml) se recogió de la vena femoral o safena del mono mediante venopunción directa y se colocó en un tubo de suero de tapón rojo que no contenía anticoagulante y se mantuvo a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos. Las muestras de sangre se centrifugaron a una temperatura de 4 °C a 3000 x g durante 5 minutos. Las muestras se mantuvieron refrigeradas durante todo el procesamiento. Se recogieron muestras de suero después de la centrifugación y se colocaron en tubos de muestra. Las muestras se almacenaron en un congelador ajustado para mantener de -60 °C a -80 °C. Las muestras de suero y las soluciones de dosificación sobrantes se enviaron congeladas en hielo seco para su análisis.

35 Se observó el sitio de cada administración subcutánea para ver lo rápido que se absorbió el volumen de inyección y también para ver si la formulación dejó un bulto o desapareció por completo. Los sitios de dosis se observaron en cada punto temporal de recogida y en la tarde de los días 2-7. Todas las dosis se absorbieron durante la duración del estudio. En función de las observaciones, se estima que las dosis se absorbieron en los primeros quince minutos después de la administración. Todos los animales mostraron actividad normal durante todo el estudio. No se observaron anomalías relacionadas con los compuestos en los animales durante todo el estudio.

40 **Análisis de las muestras.** Las muestras de plasma obtenidas como se ha descrito anteriormente se analizaron mediante LC/MS/MS aprovechando la DIC (degradación inducida por colisión) de manera similar al método descrito en el ejemplo 3.

45 **Resultados.** La concentración en suero frente al tiempo para CA28-2GS-BF cuando se administra por vía IV o por vía subcutánea como se ha descrito anteriormente se representa en la figura 9. Los puntos de datos representan todos los compuestos de CA28 PEGilados detectados. Los datos de CA28 mostrados en la figura 9 son datos históricos obtenidos en un estudio previo en el que CA28 se administró por vía intravenosa a monos cinomolgos. En ese estudio, se detectó CA28 en muestras usando HPLC.

50 Se logró una concentración máxima en suero de 500 µg/ml (11 µM) mediante administración subcutánea de CA28-

2GS-BF. La semivida terminal de CA28-2GS-BF fue de aproximadamente 5 días cuando se administró por vía IV o por vía subcutánea. Los resultados se resumen en las tablas a continuación:

Tabla 7

Sumario de las concentraciones de muestra de estudio para CA28-2GS-BF en suero de mono (IV a 50 mg/kg el día 0)			
Punto temporal	Conc. de CA28-2GS-BF (µg/ml)		
	Animal 1	Animal 2	Animal 3
5 min	1850	1550	2030
15 min	1760	1440	2000
30 min	1560	1380	1810
1 hora	1650	1330	1710
4 hora	1270	1000	1510
8 hora	1050	913	1360
Día 2	684	661	711
Día 3	541	471	538
Día 4	463	417	492
Día 5	366	384	389
Día 6	346	331	358
Día 7	303	306	311
Día 8	257	252	259
Día 9	217	252	233
Día 15	92,8	107	95,6

5

Tabla 8

Sumario de las concentraciones de muestra de estudio para CA28-2GS-BF en suero de mono (SQ a 7 mg/kg/día x 7 días)			
Punto temporal	Conc. de CA28-2GS-BF (µg/ml)		
	Animal 1	Animal 2	Animal 3
5 min	0	5,18	3,55
15 min	0	5,57	3,47
30 min	0	4,66	3,93
1 hora	0	5,41	3,56
4 hora	4,41	12,6	11,1
8 hora	32,0	15,3	21,5
Día 2	54,2	56,6	53,5
Día 3	135	117	122
Día 4	248	260	234
Día 5	398	316	311
Día 6	447	391	419
Día 7	564	412	448
Día 8	591	432	468
Día 9	596	423	455
Día 15	152	241	199

Ejemplo 8: Inhibición de la lisis mediada por el complemento de glóbulos rojos de pacientes con HPN

- 10 Se realiza una prueba de Ham modificada para medir la capacidad de los análogos de compstatina para inhibir la lisis mediada por el complemento de glóbulos rojos de pacientes con HPN *in vitro*. El complemento se activa mediante suero acidificado con magnesio añadido para lisis los glóbulos rojos de HPN. La incubación se realiza durante 90 minutos. La lectura es citometría de flujo para glóbulos rojos de HPN usando marcadores convencionales. El suero inactivado por calor se usa como control (no produce hemólisis). El suero acidificado en ausencia de inhibidor del complemento añadido produce lisis máxima. El experimento se realiza con diluciones dobles en serie de los análogos de compstatina CA28, CA28-2, CA28-2CS, CA28-2CS-BD, CA28-2GS, CA28-2GS-BF, CA28-2HS, CA28-2HS-BF, CA28-2TS, CA28-2GS-BF y CA28-3. Se determina la concentración de cada compuesto necesaria para bloquear completamente la hemólisis *in vitro*. Los glóbulos rojos también se tiñen para depósito de fragmentos C3 usando anticuerpos policlonales anti-C3 que no contienen ningún enlace que conduzca a la aglutinación (p. ej., Ab4214 o Ab14396, ambos Abcam conjugados con FITC disponibles en el mercado, Cambridge, Reino Unido) para medir la capacidad de los compuestos para inhibir la deposición de fragmentos C3 en glóbulos rojos de HPN. Los resultados se comparan con los obtenidos con eculizumab usando los mismos ensayos.
- 15
- 20

Ejemplo 9: Análogos de compstatina de acción prolongada en pacientes con HPN

- 25 Una cohorte de sujetos a los que se ha diagnosticado HPN se divide en 4 grupos. Los sujetos en los grupos 1 y 2 se

tratan con administración intravenosa de CA28-2 o CA28-3, respectivamente, a una dosis de entre 5 mg/kg y 20 mg/kg, a intervalos temporales de entre 1 y 2 semanas. Opcionalmente, el tratamiento se inicia a intervalos temporales más frecuentes y después se reduce su frecuencia para terapia de mantenimiento. Los sujetos en el grupo 3 se tratan con eculizumab según el régimen de dosificación recomendado. El grupo 4 actúa como control (sin terapia inhibidora del complemento). Hemólisis intravascular (basada en la medición de LDH y/o marcaje con ⁵¹Cr de glóbulos rojos), reticulocitosis (un indicador de anemia), hematocrito, concentración de hemoglobina en la sangre, opsonización de glóbulos rojos (depósito de productos de activación de C3, tales como C3b, en glóbulos rojos, que puede detectarse usando citometría de flujo), síntomas de HPN, requisitos de transfusión, acontecimientos tromboembólicos, agotamiento del óxido nítrico asociado a la hemólisis, mediciones de hipertensión pulmonar, calidad de vida y supervivencia se supervisan a lo largo del tiempo. Los resultados se comparan entre grupos y con datos históricos de pacientes con HPN de control obtenidos en ensayos clínicos de eculizumab. Una mejora en la anemia persistente (p. ej., como lo demuestra la reducción de la reticulocitosis, reducción de las pruebas de hemólisis, aumento del hematocrito, aumento de la hemoglobina), mejora de la calidad de vida, reducción de los síntomas de HPN, reducción de los requisitos de transfusión, reducción de los acontecimientos tromboembólicos, reducción del agotamiento del óxido nítrico asociado a la hemólisis, reducción de las medidas de hipertensión pulmonar, mejora de la calidad de vida y/o aumento de la supervivencia, en sujetos que reciben CA28-2 (grupo 1) o CA28-3 (grupo 2), en comparación con los sujetos en el grupo 4, son indicativas de eficacia.

Ejemplo 10: Análogos de compstatina de acción prolongada en pacientes con HPN

El ejemplo 9 se repite con la modificación de que los sujetos son individuos con HPN que siguen siendo dependientes de transfusión y/o continúan teniendo una hemoglobina por debajo de un límite (tal como 9,0 g/dl) a pesar del tratamiento con eculizumab. Los resultados se comparan entre los grupos.

Ejemplo 11: Análogos de compstatina de acción prolongada en pacientes con SHUa

Una cohorte de sujetos a los que se ha diagnosticado SHUa se divide en 4 grupos. Los sujetos en los grupos 1 y 2 se tratan con administración intravenosa de CA28-2 o CA28-3, respectivamente, a una dosis de entre 5 mg/kg y 20 mg/kg, a intervalos temporales de entre 1 y 2 semanas. Opcionalmente, el tratamiento se inicia a intervalos temporales más frecuentes y después se reduce su frecuencia para terapia de mantenimiento. Los sujetos en el grupo 3 se tratan con eculizumab según el régimen de dosificación recomendado. La hemólisis intravascular (basada en la medición de LDH), opsonización de glóbulos rojos (depósito de productos de activación de C3, tales como C3b, en glóbulos rojos), síntomas de SHUa, función renal, necesidad de intercambio de plasma o diálisis, calidad de vida y supervivencia se supervisan a lo largo del tiempo. Los resultados se comparan entre grupos y con datos históricos de pacientes con SHUa de control obtenidos en ensayos clínicos de eculizumab. La reducción de las pruebas de hemólisis, mejora de la calidad de vida, reducción de los síntomas de SHUa, reducción de la necesidad de intercambio de plasma o diálisis, aumento de la calidad de vida y/o aumento de la supervivencia, en sujetos que reciben CA28-2 o CA28-3, en comparación con los sujetos en el grupo 4 son indicativos de eficacia.

Ejemplo 12: Los ejemplos 8-11 se repiten usando CA28-2GS-BF, CA28-2HS, CA28-2HS-BF, CA28-2TS y CA28-2GS-TS-BF.

Ejemplo 14: Los ejemplos 9-12 se repiten usando CA28-2GS-BF, CA28-2HS, CA28-2HS-BF, CA28-2TS y CA28-2GS-TS-BF administrados diariamente mediante inyección subcutánea.

Ejemplo 14: Los ejemplos 8-11 se repiten usando análogos de compstatina de acción prolongada adicionales.

Ejemplo 15: Los ejemplos 8-11 se repiten usando análogos de compstatina reactivos con células.

Ejemplo 16: Actividad inhibidora de la activación del complemento de un análogo de compstatina de acción prolongada

CA28 y CA28-AEEAc-Lys se sintetizaron como se ha descrito anteriormente. CA28-2TS-BF se sintetizó usando un PEG bifuncional reactivo del tipo TS con respecto a la química de unión de carboxilato de NHS, que se unió con dos moléculas de CA28-AEEAc-Lys a través de la amina primaria de la cadena lateral de lisina. La actividad inhibidora de la activación del complemento de CA28 y CA28-2TS-BF se evaluó midiendo el efecto de los compuestos sobre la activación del complemento a través de la ruta clásica y a través de las rutas alternativas usando ensayos de inhibición del complemento convencionales. El protocolo para el ensayo de activación de la ruta clásica se ha descrito en el ejemplo 1. El protocolo para la activación de las rutas alternativas también mide la deposición de C3b en un formato de ELISA y se describe a continuación. Se genera depósito de C3b supervisado usando este método a través del complemento activado por la ruta clásica mediante lipopolisacárido (LPS). En resumen, se recubren placas de 96 pocillos con LPS. Se añade el compuesto que se está probando (denominado "fármaco"), seguido de la adición de plasma o suero como fuente de complemento, y se incuba. Esto se sigue de la adición de anticuerpo anti-C3 humano conjugado con HRP. Después de una incubación adicional, se añade sustrato y se detecta la señal. Los detalles del protocolo son los siguientes:

Ensayo basado en ELISA para la activación de la ruta del complemento alternativa

Materiales:

- 5 • Placa ELISA de noventa y seis pocillos (Corning 3590)
 • LPS de *Salmonella typhosa* - Sigma L7136 (40 ug/ml en PBS)
 • BSA 1 % en PBS - Calbiochem n.º 126626 dilución 1/30
 • Tampón Veronal + MgCl₂ 10 mM + EGTA 10 mM (VB-Mg EGTA)
 • Plasma humano (recogido con lepirudina a una concentración final de 5 ug/ml)
 10 • Ab anti-C3 humano conjugado con HRP (Ab poli para C3-HRP, Cappel 55237)
 • Tampón de lavado Tween-20 (0,05 % en PBS)
 • TMB (sustrato de peroxidasa) - mezcla 1:1 de BD 51-2607KC y 51-2606KC.
 • H₂SO₄ 3 M
 • Lector de microplacas

15

Protocolo:

- 20 1. Añadir 50 ul/pocillo de LPS a 40 ug/ml (en PBS)
 2. Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente
 3. Retirar agitando y golpeando la placa.
 4. Bloquear añadiendo 200 ul de BSA/PBS al 1 %
 5. Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente
 6. Retirar agitando y golpeando la placa
 7. Añadir 50 ul de VB-Mg EGTA a los pocillos n.º 2 a 12
 25 8. Añadir 100 ul de dilución inicial del fármaco (2x en VB-Mg EGTA) al pocillo 1.
 9. Diluir en serie (1:2) el fármaco de los pocillos 1 a 10 de la siguiente manera

- 30 a. Tomar 50 ul de solución del pocillo de origen
 b. Añadir esta al siguiente pocillo
 c. Mezclar pipeteando varias veces
 d. Repetir hasta el pocillo n.º 10

Nota: del pocillo n.º 10 retirar 50 ul y desechar.

- 35 10. Añadir 50 ul de dilución de plasma 2x a los pocillos 1 a 11
 11. Incubar durante 1 hora
 12. Lavar dos veces con tampón de lavado
 13. Añadir 50 ul de dilución 1/1000 de Ab C3-HRP en BSA/PBS 1 %
 14. Incubar durante 1 hora
 15. Añadir 100 ul de TMB a todos los pocillos
 40 16. Incubar durante 30 minutos
 17. Añadir 50 ul de H₂SO₄ 3 M
 18. Leer la placa a 450 nm

Fórmula para VB Mg EGTA

45

Barbital	5 mM
NaCl	72,5 mM
MgCl ₂	10 mM
EGTA	10 mM
pH	7,3-7,4

Soluciones de reserva:**Tampón Veronal (5X)**

50

	N.º de prod	PM	Para 500 ml
Barbital de sodio 9 mM	Sigma B0500	206,17	927 mg
Ácido dietil barbitúrico 15,5 mM	Sigma B0375	184,19	1,42 gramos

Mg-C12 (10X)

	N.º de prod	PM	Para 50 ml
MgCl ₂ -6H ₂ O 100 mM	Sigma M0250	203,30	1,00 gramos

EGTA (10x)

	N.º de prod	PM	Para 25 ml
EGTA 100 mM	Sigma E8145	468,3	1,17 gramos

5

Para preparar 20 ml de tampón de trabajo:

- Pesar 84 mg de NaCl
- Añadir 4 ml de VB 5X
- 10 • Añadir 2 ml de EDTA 10X
- Añadir 2 ml de MgCl 10X
- Ajustar el volumen a 20 ml con H₂O
- Ajustar el pH a 7,4

15 **Resultados**

La figura 10(A) muestra el porcentaje de inhibición de la actividad inhibidora de la activación del complemento clásica por CA28 y CA28-2TS-BF en función de la concentración molar de los compuestos. La figura 10(B) muestra el porcentaje de inhibición de la actividad inhibidora de la activación del complemento alternativa por CA28 y CA28-2TS-BF en función de la concentración molar de los compuestos. Los datos sin procesar se tabulan en la tabla 9 a continuación (4 repeticiones de cada condición). Según las curvas de inhibición mostradas en las figuras y los datos subyacentes, la actividad inhibidora del complemento de CA28-2TS-BF es al menos tan grande como la de CA28 en molaridad dentro del error experimental del ensayo. Estos resultados confirman adicionalmente la idoneidad de los análogos de compstatina de acción prolongada descritos en el presente documento, p. ej., con fines terapéuticos.

25

Tabla 9

Conc. μ M	Inhibición de AP								
	CA28				CA28-2TS-BF				
% de inhibición									
25	99,97988	99,93863	99,63421	99,21639	99,25768	91,16484	90,88126	90,96365	
12,5	88,92883	89,21629	89,21639	89,34177	89,11649	89,12814	89,28833	88,85335	
6,25	87,95967	89,97381	89,30882	89,54127	88,26093	87,29263	87,43382	87,43382	
3,125	88,62166	87,49101	87,49101	88,77211	84,04618	84,46877	85,17473	85,03663	
1,5625	70,61236	61,30841	82,92732	70,388102	77,40911	69,50223	79,80939	81,03612	
0,78125		68,01582	88,57153	87,15313	81,73668	68,39805	72,74874	81,31311	
0,390625	18,04458	12,4371	23,85205	34,34638	56,73492	44,8347	56,85372	46,83691	
0,1953125	18,02816		18,31273	18,31273	22,84681	23,89893	25,01483	30,54936	
0,09765625	2,803741	14,30825	5,5855844	5,8229156	13,57222	6,953756	10,82479	0,3179356	
0,048828125	-1,3888921	6,6793867	0,7198902	2,9032734	8,9303748	2,0128993	0,3179356	-2,829749	
0	-2,803734	-1,5396937	1,0783662	3,2266085	8,8803748	7,994963	2,159198	-0,5296734	
Inhibición de CP									
% de inhibición									
Conc. μ M	CA28				CA28-2TS-BF				
	83,89939	79,90965			81,08482	82,08877		81,32716	77,31482
	78,66463	67,24019	81,59305	83,75774	83,48765	80,70988	78,54935	78,59833	
	84,56362	84,03304	80,45423	81,88811	81,94444	78,39507	78,39827	74,84368	
	83,63009	81,59305	79,59985	81,83037	78,93837	77,29213	77,46813	76,69753	
	76,04935	76,63014	79,76801	76,94012	71,50433	70,52469	74,53703	75,51729	
	71,50723	69,88847	73,88466	72,33311	72,37554	68,29986	72,38679	71,14198	
	58,84377	72,35782	68,89195	69,11081	70,16595	70,27037	71,29803	62,19136	
0,3983	42,60152	44,39931			68,51234		47,88819	80,93253	
0,1993	24,70773	24,35892	23,85575	23,83088	41,88867	35,03886	48,31575	42,12863	
0,099625	15,79395	12,59464	18,26952	23,84749	12,50001	26,23457	26,23457	23,81111	
0	-20,39105	7,088780	13,04405	3,888231	5,088231	-0,15449198	-0,3299282	-0,012382	

Ejemplo 17: Propiedades farmacocinéticas del análogo de compstatina de acción prolongada administrado por vía intravenosa o subcutánea

Este ejemplo describe la determinación de parámetros farmacocinéticos del análogo de compstatina de acción prolongada CA28-2TS-BF después de su administración a monos cinomolgos con una sola inyección intravenosa (IV), una sola administración subcutánea o con administración subcutánea una vez al día durante siete días. CA28-2TS-BF se sintetizó usando un PEG bifuncional reactivo del tipo TS con respecto a la química de unión de carboxilato de NHS, que se unió con dos moléculas de CA28-AEEAc-Lys a través de la amina primaria de la cadena lateral de lisina.

Dosificación y recogida de muestras

Se administró CA28-2TS-BF a monos cinomolgos en el momento 0 mediante inyección intravenosa en la vena safena o mediante inyección subcutánea individual o inyección subcutánea repetida (una vez al día, durante siete días). Se usaron en este estudio seis monos cinomolgos hembra previamente expuestos, de edad 2-5 años, cuyo peso varía entre 2,6 y 3,9 kilogramos (tres por grupo). Los animales estaban sanos al comienzo de la prueba. El estudio no tuvo ocultación. Se proporcionó a los animales agua a voluntad y una dieta comercial dos veces al día antes del inicio del estudio. Se proporcionó comida a los animales según el PNT de la instalación antes del estudio. Los animales no se sometieron a ayunas. Los animales se dosificaron a 7 mg/kg mediante administración intravenosa o subcutánea en el momento 0 el(las) día(s) adecuado(s). La concentración de la solución de dosificación fue de 3,5 mg/ml para la administración IV y 25 mg/ml para la administración subcutánea. El volumen de dosificación fue de 2 ml/kg para IV y 0,28 ml/kg para la administración subcutánea. Se usó una aguja de calibre de tamaños 23G3/4 para la administración subcutánea. El compuesto se administró en dextrosa al 5 % en agua.

Se recogieron muestras de ensayo de sangre (~0,5-1 ml) de la vena femoral en los siguientes puntos temporales: Día 1: Antes de la dosis, 5 min, 15 min, 30 min, 1 hora (h), 4 h, 8 h. Días 2 - 9: 0 min. Día 15: Muestra final basada en la dosificación del día 1. Cada muestra de sangre se recogió de la vena femoral del mono mediante venopunción directa y se colocó en un tubo de suero de tapón rojo que no contenía anticoagulante y se mantuvo a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos. Las muestras de sangre se centrifugaron a una temperatura de 4 °C a 3000 x g durante 5 minutos. Las muestras se mantuvieron refrigeradas durante todo el procesamiento. Se recogieron muestras de suero después de la centrifugación y se colocaron en tubos de muestra. Las muestras se almacenaron en un congelador ajustado para mantener de -60 °C a -80 °C. Las muestras de suero y las soluciones de dosificación sobrantes se

enviaron congeladas en hielo seco para su análisis.

- Se observó el sitio de cada administración subcutánea para ver lo rápido que se absorbió el volumen de inyección y también para ver si la formulación dejó un bulto o desapareció por completo. Los sitios de dosis para los animales que recibieron inyecciones subcutáneas se observaron en la tarde de cada día de dosificación. El sitio de dosis no parecía tener un bulto y se absorbió por completo en ese momento según la inspección visual. Todos los animales se observaron dos veces al día y mostraron actividad normal durante todo el estudio. No se observaron anomalías relacionadas con los compuestos en los animales durante todo el estudio.
- 10 **Análisis de las muestras.** Las muestras de plasma obtenidas como se ha descrito anteriormente se analizaron mediante LC/MS/MS aprovechando la DIC (degradación inducida por colisión) de manera similar al método descrito en el ejemplo 3.

Resultados.

- 15 Las concentraciones en suero frente al tiempo para CA28-2TS-BF cuando se administra por vía IV o por vía subcutánea como se ha descrito anteriormente se representan en la figura 11. Los puntos de datos representan todos los compuestos de CA28 PEGilados detectados. Los datos de CA28 mostrados en la figura 11 son datos históricos obtenidos en un estudio previo en el que CA28 se administró por vía intravenosa a monos cinomolgos. En ese estudio, 20 se detectó CA28 en muestras usando HPLC/MS.
- 25 Se logró una concentración máxima en suero de aproximadamente 500 microgramos/ml mediante la administración subcutánea de CA28-2TS-BF una vez al día durante 7 días. La semivida terminal de CA28-2TS-BF fue de aproximadamente 8 días cuando se administró por vía IV o por inyección subcutánea individual. Se proporcionan datos sin procesar en las tablas 10(A) (administración IV) y 10(B) (administración subcutánea) a continuación. (En la figura 11 y las tablas 10(A) y 10(B), el día de dosificación se considera el día 0).

Tabla 10(A)

Tiempo (días)	CA28 (IV)			CA28-2TS-BF (dosis individual IV)		
	200 mg/kg		7 mg/kg		7 mg/kg	
0,0035			232	190	214	
0,01			216	190	209	
0,02	34		221	177	199	
0,042	17		211	175	183	
0,167	9		193	152	185	
0,333	5		212	191	154	
1	1,5		160	130	130	
2			141	116	126	
3			128	98,7	113	
4			114	89,1	95,8	
5			105	75	87,3	
6			95,1	67	74,4	
7			83,9	61,4	68,9	
8			86	52,8	68,4	
14			51	26,8	39,7	

Tabla 10(B)

Tiempo (días)	CA28-2TS-BF (dosis individual SC)			CA28-2TS-BF (7 x SC diarias)		
	7 mg/kg			7 mg/kg/día		
0,0035	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
0,01	1,42	BQL	1,7	BQL	BQL	BQL
0,02	3,55	1,64	0,8	BQL	BQL	BQL
0,042	6,1	3,46	7,05	2,32	1,14	2,44
0,167	16	12,2	28,6	14,7	5,76	12,1
0,333	26	25,8	32,9	32,9	18	26,8
1	70	76,5	76	80,5	80	86,5
2	187	181	96,8	196	185	189
3	111	103	89,8	281	286	282
4	108	98,9	99,5	425	377	405
5	98,4	87,8	101	427	404	436
6	86,8	87	61,6	490	483	396
7	75,2	83,2	78,6	607	592	584
8	67,5	73,4	72,2	495	481	570
14	38,3	44,5	40,7	332	298	337

BQL = por debajo del límite de cuantificación

Como se ha observado anteriormente, CA28-2TS-BF se sintetizó usando un PEG bifuncional reactivo del tipo TS, lo que da como resultado la formación de un carbamato después de reacción con la amina primaria de lisina. CA28-2GS-BF se sintetizó usando un PEG bifuncional reactivo del tipo GS con respecto a la química de unión de carboxilato de NHS, lo que da como resultado la formación de una amida después de reacción con la amina primaria de lisina. El compuesto también contiene un enlace éster, que está ausente en CA28-2TS-BF. Es notable que la semivida terminal de aproximadamente 8 días alcanzada con CA28-2TS-BF en este experimento fue considerablemente mayor que la de CA28-2GS-BF, que se descubrió que tenía una semivida de aproximadamente 5 días en un experimento similar (véase ejemplo 8).

Ejemplo 18: Los análogos de compstatina inhiben la deposición de C3 en glóbulos rojos de pacientes con HPN y protegen contra la lisis mediada por el complemento

Se realizó una prueba de Ham modificada para evaluar la capacidad de los análogos de compstatina para proteger los glóbulos rojos de HPN de la lisis mediada por el complemento. Los glóbulos rojos de un paciente con HPN se expusieron a suero humano acidificado (como fuente de componentes del complemento) y magnesio (Mg^{2+} , necesario para la activación de rutas alternativas) en ausencia de inhibidores del complemento o en presencia de diversas cantidades de análogos de compstatina CA28 o CA28-2GS-BF. La exposición al suero humano inactivado por calor se usó como un control que no representa lisis mediada por el complemento significativa ya que el complemento se inactiva por calor. Se usó exposición a suero humano acidificado y magnesio (Mg^{2+}) en ausencia de inhibidores del complemento (panel marcado con Mg^{2+}) como control que representa la lisis máxima.

Tras la incubación, las células se tiñeron con anticuerpos contra CD59 y C3d. El nivel de CD59 permitió la clasificación de los glóbulos rojos de HPN como tipo I, tipo II o tipo III. Se usó tinción para C3d, un producto de activación y escisión de C3, como marcador del depósito (carga) de C3 y producto de activación de C3. Se realizó análisis de citometría de flujo para evaluar CD59 y C3d en superficies de glóbulos rojos y para cuantificar los porcentajes de células de tipo I, tipo II y tipo III presentes en diversas muestras.

Los resultados de un experimento de dilución que demuestra el efecto de diferentes concentraciones de CA28 sobre el depósito de C3 y los porcentajes celulares se muestran en la fig. 12(A). Los resultados de un experimento de dilución que demuestra el efecto de diferentes concentraciones de CA28-2GS-BF sobre el depósito de C3 y los porcentajes celulares se muestran en la fig. 12(B). Los resultados se presentan de manera cuantitativa en la tabla 11 a continuación. Las células de tipo I (que se muestran en naranja en la fig. 12) tienen niveles normales de CD59. Las células de tipo III (que se muestran en azul en la fig. 12) esencialmente no tienen CD59 detectable. Estas células son muy susceptibles a la lisis mediada por el complemento. Las células de tipo II (mostradas en morado en la fig. 12) tienen niveles reducidos de CD59 en comparación con células normales o de tipo I y tienen una sensibilidad intermedia a la lisis mediada por el complemento. En presencia de activación del complemento, las células de tipo III se lisan rápidamente. La reducción o ausencia de lisis puede demostrarse por la mayor presencia de células de tipo III, como resulta evidente como un mayor porcentaje de células de tipo III en el panel sin lisis en comparación con el panel en (presencia de Mg^{2+} (lisis máx.)) en las figuras tanto 12(A) como 12(B). En otras palabras, hay relativamente menos

células de tipo III en el control positivo que en el control negativo. Las células de tipo II pueden lisarse con el tiempo en presencia de complemento activado, pero pueden acumular una cantidad considerable de productos de activación de C3, tales como C3d, antes de hacerlo. La reducción o ausencia de lisis puede demostrarse por el aumento de los niveles de C3 o productos de activación de C3 en células de tipo II, como resulta evidente al comparar el nivel de C3d en células de tipo II en el panel sin lisis con el nivel de C3d en células de tipo II en el panel de lisis máxima en las 5 figuras tanto 12(A) como 12(B). En otras palabras, hay más C3d en las células en el panel de lisis máxima que en el panel sin lisis. Las células de tipo I tienen CD59 funcional, de modo que desactivan la convertasa y, por lo tanto, no 10 acumulan tanto C3d como las células de tipo II. Sin embargo, la cantidad de C3d que acumulan se puede usar como un indicador sustituto de la cantidad de lisis de las células más vulnerables (tipo II y III). Por tanto, la reducción de C3d 15 en células de tipo I es indicativa de protección contra la lisis. Un cambio en los porcentajes relativos de células de tipo I, II y III de los porcentajes presentes en los paneles de control de lisis máxima (Mg^{2+}) hacia los porcentajes presentes en los paneles de control sin lisis (suero inactivado por calor) es indicativo de protección contra la lisis mediada por el complemento. Estos porcentajes se muestran en la tabla a continuación. La columna marcada como % C'3 en la tabla 20 11 se refiere al porcentaje de células consideradas "positivas" para la presencia de C3 y productos de activación de C3 ("carga de C3"). Como se puede ver en las figuras 12(A) y (B) y en la tabla 11, CA28 y CA28-2GS-BF demostraron protección similar de la lisis de glóbulos rojos de HPN sobre las concentraciones probadas, prácticamente sin carga 25 de C3 en glóbulos rojos de HPN a 100 microgramos/ml de compuesto o concentraciones mayores. Obsérvese que los porcentajes de células de tipo III, II y I en presencia de 100 ug/ml o más de análogo de compstatina fueron esencialmente iguales que en el control sin lisis, lo que indica protección completa contra la lisis mediada por el complemento según lo determinado por este ensayo. Concentraciones inferiores a 100 ug/ml, pero superiores a 60 ug/ml, p. ej., al menos 70 ug/ml, al menos 80 mg/ml o al menos 90 ug/ml, pero inferiores a 100 ug/ml no se probaron en este experimento, pero también pueden proporcionar protección significativa. 100 microgramos/ml de CA28-2GS-BF representa una concentración de aproximadamente 2,5 micromolar, que se puede alcanzar fácilmente *in vivo* como se describe en el presente documento.

Tabla 11: Porcentajes y carga de C3 de glóbulos rojos de HPN de tipo I, II y III en ausencia o presencia de análogos de compstatina (se muestran las concentraciones en microgramos/ml)

	% de tipo III	% de C3	% de tipo II	% de C3	% de tipo I	% de C3
Inactivado por calor (sin lisis)	37,88	0,28	84,78	1,22	11,32	0,28
Magnesio añadido (lisis máxima)	16,75	0,38	84,7	13,48	19,55	0,38
CA28 1	19,42	1,2	84,81	10,06	19,77	1,7
CA28 4	19,43	0,91	84,9	10,42	19,88	1,78
CA28 8	17,83	0,7	86	11,12	18,17	1,98
CA28 16	22,11	0,88	82,8	8,83	15	1,93
CA28 25	28,53	0,75	64,81	8,3	14,36	1,84
CA28 100	37,36	0,1	51,5	0,82	19,84	0,38
CA28 500	37,29	0,38	52,06	0,83	19,84	0,38
CA28-2GS-BF 25	18,19	0,38	86,35	13,38	15,46	2,38
CA28-2GS-BF 40	18,16	1,21	88,38	13,32	15,88	2,84
CA28-2GS-BF 62	13,87	0,28	88,48	13,34	19,87	2,38
CA28-2GS-BF 63	17,94	1,64	86,97	13,36	15,99	2,38
CA28-2GS-BF 100	35,32	0,11	63,83	0,88	19,75	0,37
CA28-2GS-BF 200	37,43	0,92	51,88	0,88	19,59	0,32
CA28-2GS-BF 500	37,87	0,38	61,87	0,8	19,28	0,34

30 **Ejemplo 19: Efecto del análogo de compstatina y Soliris en el depósito de C3 en glóbulos rojos del paciente con HPN**

Se realizó un experimento similar al descrito en el ejemplo 18 para demostrar adicionalmente el efecto protector del 35 análogo de compstatina CA28-2GS-BF y compararlo con el del anticuerpo anti-C5 Soliris. Se realizó un ensayo de Ham modificado como en el ejemplo 18 usando glóbulos rojos de HPN incubados en presencia de complemento activado ya sea en ausencia de inhibidor del complemento (panel izquierdo) o en presencia de Soliris (panel central) o CA28-2GS-BF (50 ug/ml) (panel derecho). Se realizó citometría de flujo después de la tinción de anticuerpos usando 40 anticuerpos contra CD59 y C3d. Los resultados se muestran en la figura 13. En esta figura, el cuadrante 1 (Q1) y el cuadrante 3 (Q3) representan células de tipo III. El cuadrante 2 (Q2) y el cuadrante 4 (Q4) representan células de tipos I y II. Q1 y Q2 representan células con una cantidad significativa y anormalmente alta de depósito del producto de activación de C3 (p. ej., C3d). Q3 y Q4 representan células sin depósito significativo de C3d o nivel algo elevado (parte derecha de Q4) pero menos que las células Q2. Los porcentajes de células en los diferentes cuadrantes se presentan debajo de cada panel en la figura 13 y en la tabla 12 a continuación.

Tabla 12

Población	Sin inhibidor		Eculizumab		CA28-2GS-BF	
	N.º de acontecimientos	% del original	N.º de acontecimientos	% del original	N.º de acontecimientos	% del original
Q1	233	0,09	90,146	36,79	23	0,01
Q2	7,992	3,22	9,609	3,92	18	0,01
Q3	9,853	3,97	4,591	1,87	153,187	61,54
Q4	230,241	92,72	140,689	57,42	95,713	38,45

Como se puede observar, en ausencia de inhibidores, la gran mayoría de las células se encuentran en Q4 (tipo I o tipo II con niveles bajos de depósito del producto de activación de C3). Las células de tipo III principalmente se habrían lisado, de modo que sus porcentajes (Q1 y Q3) son bajos. Las células Q2 que acumulan productos de depósito de C3 se lisan con el tiempo, de modo que su número se mantiene relativamente bajo. En presencia de eculizumab, las células de tipo III están protegidas de la lisis al menos inicialmente, pero acumulan productos de activación de C3 (p. ej., C3d) como se muestra por el alto porcentaje de células Q1 en comparación con el panel sin inhibidor (36,79 % frente a 0,09 %). La proporción relativa de células Q2+Q4 (tipo I y II) es menor como resultado del aumento de la supervivencia de células de tipo III. Sin embargo, resulta evidente que se produce depósito significativo de productos de activación de C3 (p. ej., C3d) en células de tipo III, lo que puede conducir con el tiempo a lisis o a eliminación (*in vivo*). Los glóbulos rojos de HPN tratados con CA28-2GS-BF (panel derecho) no presentan esencialmente depósito de C3d, independientemente de si son de tipo I, II o III, a diferencia de los resultados con eculizumab. El porcentaje de células en Q1 y Q2 es insignificante. Hay un aumento dramático en el porcentaje de células de tipo III (61,55 %) en comparación con los resultados sin inhibidor o con eculizumab, lo que indica (junto con la falta de depósito de C3d) mejor protección contra la lisis por CA28-2GS-BF.

Ejemplo 20: Ensayos clínicos de fase 1 de un análogo de compstatina de acción prolongada en sujetos sanos

20 Dos ensayos clínicos de fase 1, aleatorizados, doble ciego y controlados con placebo de un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un PEG lineal de 40 kD y dos fracciones de análogo de compstatina (una unida a cada extremo del PEG lineal), cada una de las cuales comprende un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28 extendida en su C-terminal por una fracción que comprende AEEAc-Lys para la unión de la fracción de PEG se iniciaron para evaluar la seguridad, tolerabilidad, farmacocinética y farmacodinámica: un ensayo de dosis única ascendente (SAD) y un ensayo de dosis múltiple ascendente (MAD). Este compuesto se denomina ACAP-40 por conveniencia en los Ejemplos 20 - 26. En el ensayo de dosis única ascendente, los sujetos sanos se distribuyen aleatoriamente en una de seis cohortes a dosis que oscilan entre 45 mg y 1440 mg (45, 90, 180, 360, 720 o 1440 mg) en dextrosa al 5%. El ACAP-40 se administra mediante inyección subcutánea el primer día del ensayo, seguido de 29 o 43 días de seguimiento en función del nivel de dosificación. Cada cohorte incluye 4 sujetos que reciben el fármaco y 1 o 2 sujetos que reciben placebo. En el ensayo de dosis múltiple ascendente, el ACAP-40 se administra mediante inyección subcutánea a sujetos sanos diariamente durante 28 días consecutivos, seguidos de 56 días de seguimiento tras la última dosis. Los sujetos participan en una de cuatro cohortes a dosis que oscilan entre 30 mg y 270 mg/día (30, 90, 180 o 270 mg/día). Cada cohorte incluye 4 sujetos que reciben el fármaco y 1 sujeto que recibe placebo. La seguridad se evalúa mediante un seguimiento clínico intensivo. Se realizan muestrados sanguíneos seriados para determinar las concentraciones de ACAP-40 en suero. También se obtienen muestras de sangre para determinar marcadores relevantes de la actividad del complemento (C3, CH50 y AP50). En las últimas cohortes se miden otros marcadores relevantes de PD (C3 intacto, iC3b, C3a, C4a y C5a). Antes de la dosificación múltiple, los sujetos reciben las vacunas contra *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* tipo B (Hib).

40 Resultados
Un total de 24 sujetos sanos habían recibido dosis únicas de ACAP-40 en dosis de hasta 1440 mg en el ensayo de fase 1 de dosis única ascendente, y un total de 16 sujetos sanos habían recibido dosis múltiples de ACAP-40 durante 28 días consecutivos en dosis de hasta 270 mg/día en el ensayo de dosis múltiple ascendente, 11 sujetos sanos habían recibido administraciones únicas o múltiples de un placebo en los ensayos, y el análisis reveló que el ACAP-40 fue bien tolerado en ambos ensayos sin que se notificaran acontecimientos adversos graves o acontecimientos adversos emergentes del tratamiento que condujeran a la interrupción del fármaco del estudio o acontecimientos adversos graves. Además, no se observaron señales de seguridad de relevancia clínica en la revisión de los datos de laboratorio, signos vitales, exámenes físicos o resultados de electrocardiogramas de ninguno de los ensayos.

50 La farmacocinética del ACAP-40 estuvo en consonancia con las expectativas derivadas de los datos preclínicos, observándose escasa variabilidad intersujeto.

55 En el ensayo de dosis múltiples ascendentes, se observó que la concentración plasmática de ACAP-40 aumentaba linealmente con la dosis, alcanzando la concentración máxima entre los días 14 y 28. Las concentraciones séricas se aproximaron al estado estacionario tras 28 días de dosificación diaria.

En ambos ensayos, se observó un aumento del C3 dependiente de la dosis que es indicativo de la unión del ACAP-

40 al C3.

En el estudio de dosis única ascendente, se observó una reducción de la actividad hemolítica mediada por la vía alternativa (AP50) tras una dosis única de 1440 mg de ACAP-40.

- 5 En la tercera cohorte del ensayo de dosis múltiples ascendentes de ACAP-40, a un nivel de dosis de 180 mg/día, se observó una reducción de la hemólisis inducida por suero ex vivo tan pronto como siete días después del inicio del tratamiento, continuó durante la duración del mismo y alcanzó un máximo de más del 80% en dos de los cuatro sujetos y de más del 60% en los otros dos sujetos (Fig. 14). En la cuarta cohorte del ensayo de dosis múltiples ascendentes de ACAP-40, a un nivel de dosis de 270 mg/día, se observó una reducción de la hemólisis inducida por suero ex vivo ya siete días después del inicio del tratamiento, continuó durante la duración del mismo y alcanzó un máximo de más del 80% en tres de los cuatro sujetos. El cuarto sujeto es un caso atípico y mostró una reducción de aproximadamente el 40% frente al valor basal.
- 10 15 El porcentaje de inhibición de la hemólisis inducida por suero ex vivo se determinó basándose en un ensayo estándar para la hemólisis de eritrocitos de conejo cuando el complemento se activa por la vía alternativa (PA). Los eritrocitos de conejo son activadores espontáneos de la PA humana. El ensayo aprovecha el hecho de que cuando los eritrocitos de conejo se incuban en suero con la adición de EGTA para quelar el Ca2+ (para inhibir la activación del complemento por las vías clásica y de la lectina), se forma la convertasa AP, lo que provoca la activación de C3 y la subsiguiente 20 lisis de los eritrocitos, que puede detectarse mediante la detección de hemoglobina libre por espectrofotometría. Cabe señalar que este ensayo probablemente subestima la inhibición porcentual real de la hemólisis porque la muestra de control negativo carece de suero, mientras que el suero está presente en las muestras de los sujetos y contribuye a la absorbancia basal en estas muestras.
- 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560
- Cabe señalar que, en los ensayos clínicos de eculizumab en pacientes con HPN, un inhibidor del complemento que se une a C5, se demostró que la inhibición del 80% de la hemólisis inducida por suero ex vivo (utilizando suero de pacientes con HPN) era considerablemente beneficiosa para el tratamiento de la HPN (Hillmen, P., et al., N Engl J Med 2004; 350:552-9). El presente Ejemplo confirma, por tanto, que se alcanzaron niveles farmacológicamente relevantes de inhibición del complemento al menos a la dosis de 180 mg/día de ACAP-40. El presente ejemplo confirma además que las dosis farmacológicas de ACAP-40 fueron seguras y bien toleradas, que el perfil farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD) de ACAP-40 admite la administración diaria SC, y que las dosis diarias de ACAP-40 de 180 mg y 270 mg redujeron significativamente la actividad hemolítica ya siete días después del inicio de la dosis, y que esta inhibición se mantuvo durante todo el periodo de dosificación.
- En un aspecto, los datos PK de estos estudios se han utilizado para desarrollar un modelo PK/PD, que puede utilizarse para ayudar a la selección de la dosis en pacientes con HPN u otros pacientes a los que se administre ACAP-40.

La presente divulgación contempla que dosis más bajas de ACAP-40 también pueden ser eficaces en la HPN. Por ejemplo, el ensayo de hemólisis inducida por suero ex vivo sólo mide la lisis por MAC, lo que refleja la hemólisis intravascular. El ACAP-40 (y algunos otros compuestos aquí descritos) protegen a las células de la MAC y también de la opsonización por fragmentos de C3, por ejemplo, C3b, que es una causa de hemólisis extravascular y disfunción potencial que no mejora con el eculizumab. Por lo tanto, sin querer estar limitado por ninguna teoría en particular, la presente divulgación enseña que la eficacia en el tratamiento de la HPN puede lograrse en algunas realizaciones incluso con dosis que son inferiores a las que se requerirían para inhibir el 80% de la hemólisis inducida por suero ex vivo, al menos en parte debido a la inhibición de la hemólisis extravascular.

Así, entre otras cosas, el presente ejemplo demuestra que pueden conseguirse efectos eficaces con la dosificación subcutánea (por ejemplo, dosificación subcutánea diaria durante un periodo de tiempo relevante, por ejemplo durante al menos un día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas o más) de un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un PEG lineal de 40 kD y dos fracciones análogas de compstatina. El presente Ejemplo demuestra específicamente efectos eficaces logrados con una dosis diaria de 180 mg/día, y contempla específicamente que tanto dosis más altas como más bajas pueden ser deseables en circunstancias apropiadas. El presente ejemplo también demuestra específicamente los efectos eficaces logrados con una dosis diaria de 270 mg/día, y contempla específicamente que tanto dosis más altas como más bajas pueden ser deseables en circunstancias apropiadas.

Además, a la luz de la demostración particular de los resultados eficaces logrados con los regímenes de dosificación proporcionados para un ACAP-40, el presente ejemplo confirma la utilidad particular de los análogos de compstatina de acción prolongada, y en particular de los análogos que comprenden al menos dos fracciones análogas de compstatina y/o de los análogos que comprenden una fracción de PEG con un peso molecular de aproximadamente 40 kD (por ejemplo, dentro del intervalo de aproximadamente 10 kD a aproximadamente 50 kD, incluyendo específicamente con un peso molecular de aproximadamente 20 kD, 30 kD, 40 kD, etc.), en tales regímenes.

Como alternativa o adicionalmente, el presente ejemplo demuestra la utilidad particular de los análogos de compstatina de acción prolongada que tienen un peso molecular total no superior a aproximadamente 50 kD en regímenes de dosificación como los descritos en el presente documento (véase más arriba).

Ejemplo 21: Ensayo clínico de fase Ib de ACAP-40 en sujetos con HPN

Se inició un ensayo clínico de fase Ib con dosis únicas y múltiples ascendentes de ACAP-40 para evaluar la seguridad, tolerabilidad, FC y PD de ACAP-40 junto con eculizumab (Soliris) en pacientes adultos con HPN. En este ensayo clínico, se administran dosis subcutáneas de ACAP-40 en dextrosa al 5% a pacientes con HPN, todos ellos en tratamiento concurrente con eculizumab. Para participar en el ensayo, los pacientes deben tener al menos 18 años de edad, pesar más de 55 kg, haber estado en tratamiento con eculizumab durante al menos 3 meses, tener una hemoglobina <10 g/dL en el cribado o haber recibido al menos una transfusión en los 12 meses anteriores al cribado, tener un recuento de plaquetas > 30.000/mm³ y un recuento absoluto de neutrófilos > 500 células/μL. Antes de la dosificación, todos los sujetos inician antibióticos orales profilácticos y reciben la vacunación contra *Neisseria meningitidis*. Los sujetos de las cohortes 3 y 4 también se vacunan contra *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* tipo B (Hib).

Cada una de las dos primeras cohortes está compuesta por dos pacientes que reciben una dosis única de ACAP-40 seguida de al menos 28 días de seguimiento. Si se concluye que la dosis única se tolera bien tras este periodo de seguimiento, el paciente recibe entonces un régimen de dosis subcutáneas diarias de ACAP-40 durante 28 días consecutivos adicionales. La tercera y cuarta cohortes están compuestas por dos y seis pacientes, respectivamente, que reciben dosis subcutáneas diarias de ACAP-40 durante 28 días consecutivos. Las dosis estudiadas son las siguientes:

20	Cohorte 1:	Dosis única SC de 25 mg de ACAP -40 y dosis SC repetidas de 5 mg/día
	Cohorte 2:	Dosis única SC de 50 mg de ACAP-40 y dosis SC repetidas de 30 mg/día
	Cohorte 3:	Dosis SC repetidas de 180 mg/día de ACAP-40
	Cohorte 4:	Dosis SC repetidas de 270 mg/día de ACAP -40

La seguridad se evaluó mediante seguimiento clínico y toda la medicación fue administrada por enfermeras cualificadas en el domicilio de los sujetos o en la clínica. Se recogieron muestras seriadas de sangre en suero para la determinación de las concentraciones de ACAP-40. Se evaluaron la actividad farmacodinámica (PD) y las señales de eficacia, incluyendo la deshidrogenasa láctica (LDH), los niveles de hemoglobina, la distribución de clones de PNH en los GR, las necesidades de transfusión, los niveles de complemento, la deposición de fragmentos de C3 en los GR y los reticulocitos.

Resultados

30 Cuando las tres primeras cohortes habían completado su dosificación, el análisis reveló que el ACAP-40 había sido bien tolerado con un acontecimiento adverso grave notificado, que se consideró poco probable que estuviera relacionado con la administración del ACAP-40.

35 Cuando dos sujetos habían completado la dosificación con una dosis farmacológicamente activa de 180 mg, ambos habían mostrado mejoría clínica y cambios relevantes en los biomarcadores sanguíneos. Los niveles de hemoglobina aumentaron en ambos sujetos durante las dos primeras semanas de tratamiento y se mantuvieron estables hasta el final del tratamiento el día 28. La LDH se mantuvo estable en ~1,5x ULN en un sujeto y se redujo de 1,5x ULN a dentro del rango normal en el otro sujeto. La proporción de glóbulos rojos de tipo III (CD59 negativos) se duplicó aproximadamente en ambos sujetos, aumentando del 22,3% al 52% y del 32,5% al 62,5% del día 1 al 29, respectivamente. Las necesidades de transfusión de GR también se redujeron durante el periodo de dosificación en comparación con los datos históricos recientes. No se notificaron acontecimientos adversos graves relacionados con el tratamiento y no se produjeron acontecimientos adversos relacionados con el tratamiento que condujeran a la interrupción. Se procedió a la dosificación en la cohorte 4 (270 mg diarios).

45 Cuando tres sujetos habían completado 28 días de dosificación con ACAP-40 SC 270 mg/día, los tres sujetos mostraron una mejoría clínica similar asociada a cambios relevantes en los biomarcadores sanguíneos. Los niveles de Hb aumentaron, los niveles de LDH disminuyeron, los reticulocitos disminuyeron y el porcentaje de GR de tipo III de HPN aumentó. Basándose en la evaluación del perfil de riesgos/beneficios, se aprobó una modificación del protocolo para permitir la continuación ininterrumpida de la dosificación en la cohorte de 270 mg/día durante 56 días adicionales para un total de 84 días de tratamiento además de la terapia con eculizumab en curso. Ninguno de los tres sujetos había requerido una transfusión de glóbulos rojos desde el inicio del tratamiento con ACAP-40.

55 Estos datos confirman que las dosis farmacológicas de ACAP-40 son seguras y bien toleradas en sujetos con HPN y que la dosificación SC diaria con ACAP-40 proporcionará una inhibición sostenida de la actividad hemolítica en pacientes con HPN. Estos datos confirman además que la inhibición de C3 proporciona un beneficio clínico a los sujetos con HPN que tienen una respuesta subóptima al tratamiento anti-C5 (por ejemplo, el tratamiento con eculizumab).

60 La presente divulgación contempla así la dosificación subcutánea (por ejemplo, dosificación subcutánea diaria durante un periodo de tiempo relevante, por ejemplo durante al menos un día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas o más, por ejemplo, continuando durante meses o años) de un análogo de compstatina de acción prolongada que comprenda un PEG lineal de 40 kD y dos moléculas análogas de compstatina,

ya sea como tratamiento único o en combinación con otra terapia (por ejemplo, terapia con eculizumab).

Ejemplo 22: Ensayo clínico de fase 1b de ACAP-40 en pacientes con HPN

- 5 Se lleva a cabo un ensayo clínico abierto de fase 1b de ACAP-40 en pacientes con HPN no tratados para evaluar la seguridad, la FC, la PD y la eficacia preliminar de dosis repetidas de ACAP-40. Se seleccionan pacientes de sexo masculino y femenino diagnosticados de HPN hemolítica. Son elegibles pacientes masculinos y femeninos diagnosticados de HPN hemolítica. Se requiere que los sujetos hayan tenido una transfusión de sangre en los 12 meses anteriores y niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) > 2 veces el límite superior de la normalidad (ULN). Antes de la dosificación, los sujetos son vacunados contra *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* Tipo B (Hib) y comienzan antibióticos orales profilácticos. Se administran dosis de ACAP-40 en dextrosa al 5% mediante inyección subcutánea durante al menos 28 días y hasta 84 días consecutivos. (En este contexto, "sin tratamiento" se refiere a pacientes que no han sido tratados previamente con un inhibidor del complemento). Se inscriben dos cohortes de 3 pacientes cada una. Se prueban dosis de 180 mg/día para la primera cohorte y de 270 mg/día para la segunda. Las dosis se administran en un volumen de 1,8 ml en una única inyección diaria o en 2 inyecciones diarias de 0,9 ml. El criterio principal de valoración de la eficacia del ensayo es la medición del nivel de LDH como indicador de la hemólisis intravascular. Otros marcadores relevantes de eficacia medidos incluyen la hemoglobina, la distribución de clones de PNH en los GR, la actividad hemolítica total del complemento (CH50), la actividad hemolítica mediada por la vía alternativa (AP50), las necesidades de transfusión, el recuento de reticulocitos y la deposición de fragmentos de C3 en las células sanguíneas (como indicador del potencial de hemólisis extravascular). La medición de la deposición de fragmentos de C3 se realiza mediante citometría de flujo, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente. Se utiliza un anticuerpo que reaccione de forma cruzada con C3b, C3c y C3d.

25 **Resultados**

25 **Cohorte 1**

30 Tras la finalización de la cohorte 1, dos sujetos habían recibido dosis de 180 mg de ACAP-40 durante 28 días y un sujeto retiró su consentimiento debido a una reacción tras la primera dosis. Se observó una marcada reducción en los niveles de LDH, de 2078 U/L a 1082 U/L y de 1325 U/L a 709 U/L (normal 100-250 U/L) del día 1 al día 29, respectivamente, en ambos sujetos que recibieron 28 días de tratamiento. Ninguno de los dos sujetos alcanzó los criterios para la continuación en la parte 2.

35 Los niveles de hemoglobina (Hb) de cribado estaban por debajo de 80 g/L y ambos sujetos recibieron transfusiones en las 3 semanas previas a la dosificación con ACAP-40. Los niveles de Hb se mantuvieron por encima de 80 g/L en ambos sujetos y ninguno requirió una transfusión durante el periodo de dosificación. Ambos sujetos recibieron transfusiones en las 4 semanas siguientes a la interrupción del tratamiento con ACAP-40.

40 La fracción de GR de tipo III (CD59 Negativo) se triplicó aproximadamente en ambos sujetos, aumentando del 5,1% y 13,4% el día 1 al 17,4% y 37,6% el día 29, respectivamente.

45 En ambos sujetos que completaron 28 días de dosificación, el ACAP-40 pareció ser seguro y bien tolerado. El tercer sujeto desarrolló náuseas, vómitos y una erupción cutánea 5-6 horas después de recibir la 1^a dosis de ACAP-40. Este acontecimiento se notificó como acontecimiento adverso grave posiblemente relacionado con el ACAP-40. Para apoyar la continuación en el estudio, esta reacción se investigó más a fondo con pruebas de reactividad celular in vitro y una prueba de punción cutánea con ACAP-40 y PEG 40kD. Las pruebas concluyeron que no había pruebas de activación de células T y la prueba cutánea fue negativa. Por lo tanto, se consideró médicaamente seguro que el sujeto volviera a participar en el estudio. Sin embargo, el sujeto retiró su consentimiento por motivos personales.

50 **Cohorte 2**

55 Despues de que dos sujetos tratados con 270 mg/día de ACAP-40 administrados mediante inyección SC hubieran completado el periodo de tratamiento de 28 días, ambos sujetos demostraron notables reducciones en los niveles de LDH hasta dentro de 2 veces el límite superior de la normalidad y aumentos en el porcentaje de GR de tipo III de HPN.

60 Los sujetos de esta cohorte podían seguir recibiendo ACAP-40 diariamente tras la revisión de todos los datos si se observaba un beneficio clínico y si así lo solicitaba el investigador. Los dos sujetos tratados cumplieron los criterios predeterminados para continuar la dosificación hasta los 84 días. Un sujeto abandonó el estudio por motivos personales. El otro sujeto continuó con la dosificación y siguió mostrando una reducción sostenida de la LDH cuando se analizó el día 57. La dosificación del siguiente sujeto de la cohorte 2 está pendiente.

65 En resumen, el ACAP-40 administrado diariamente fue seguro y bien tolerado y condujo a una supresión sostenida de la hemólisis en pacientes con HPN que no recibían eculizumab.

Además, la presente divulgación proporciona específicamente ciertos conocimientos relativos en particular a ciertas características deseables de los dispositivos (por ejemplo, el calibre de la aguja, el diámetro del orificio de la aguja y/o el grosor de la pared, etc.) particularmente útiles para la administración de ciertas composiciones de ACAP, incluyendo

específicamente ciertas composiciones de ACAP-40 tal como se describen en el presente documento (véase más arriba).

Ejemplo 23: Estudios preclínicos del ACAP-40 intravítreo

5 Se realizaron estudios preclínicos en monos para evaluar la seguridad y la farmacología del ACAP-40 cuando se inyecta por vía intravítreo. El ACAP-40 administrado por vía intravítreo en monos cynomolgus se distribuye en el torrente sanguíneo y luego se distribuye ulteriormente y/o se elimina lentamente del organismo. Los resultados de los análisis toxicocinéticos de las concentraciones vítreas y séricas del ACAP-40 tras repetidas inyecciones intravítreas 10 en el transcurso de nueve meses a dosis de hasta 24,8 mg/oj o en dextrosa al 5% en volúmenes de 50 o 100 µl/oj indicaron que había poca acumulación intraocular o sérica del fármaco a lo largo de múltiples inyecciones. Además, 15 un examen toxicológico completo, incluida la evaluación oftalmológica mediante lámpara indirecta y de hendidura, tomografía de coherencia óptica de dominio espectral, electrorretinografía y tonometría y exámenes histopatológicos de ambos ojos y de aproximadamente 50 tejidos adicionales de cada mono no revelaron indicios de cambios mediados por ACAP-40 en ninguna de las dosis probadas.

20 La evaluación del perfil farmacocinético de una dosis intravítreo única de ACAP-40 (10 mg/oj en ambos ojos) en monos reveló una semivida vítreo de aproximadamente 3,2 días. Tras la inyección intravítreo, las concentraciones séricas de ACAP-40 aumentaron hasta el día 7 posterior a la dosis y luego disminuyeron con una semivida aparente de 10,4 días.

25 Entre otras cosas, la presente divulgación contempla regímenes de dosificación para un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un PEG lineal de 40 kD y dos moléculas de análogo de compstatina en los que el momento de las dosis individuales se selecciona específicamente para garantizar un patrón PK deseado a la luz de la semivida del ACAP-40, como se describe en el presente documento.

Ejemplo 24: Ensayo clínico de fase 1b de dosis única ascendente de ACAP-40 en sujetos con DMAE

30 Se inició un ensayo clínico de fase 1, abierto, de dosis única ascendente de ACAP-40 en pacientes con DMAE húmeda y que recibían terapia anti-VEGF (en concreto, Lucentis®, Eylea® o Avastin®), para evaluar la seguridad, la tolerabilidad y la FC del ACAP-40. En este ensayo, los pacientes reciben una dosis única de ACAP-40 mediante inyección intravítreo seguida de 113 días de seguimiento. Inicialmente estaba previsto inscribir a nueve pacientes en el ensayo, en tres cohortes de tres pacientes cada una, a dosis de 5 mg, 10 mg y 20 mg de ACAP-40 en dextrosa al 5% en un volumen de 100 microlitros. Una vez completada la inscripción de las tres cohortes, la tercera cohorte se 35 amplió de tres pacientes a un total de 12 pacientes. El ACAP-40 fue bien tolerado en los nueve pacientes iniciales y no se notificaron acontecimientos adversos graves.

40 La presente divulgación proporciona regímenes de dosificación según los cuales se administra por inyección intravítreo un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un PEG lineal de 40 kD y dos fracciones de análogo de compstatina. En algunas realizaciones, un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un PEG lineal de 40 kD y dos moléculas análogas de compstatina se administra como terapia única; en algunas realizaciones, se administra en combinación con otra terapia (por ejemplo, terapia anti-VEGF), de modo que el paciente está expuesto simultáneamente a ambas.

45 El presente ejemplo describe y apoya específicamente regímenes de dosificación en los que un análogo de compstatina de acción prolongada que comprende un PEG lineal de 40 kD y dos moléculas análogas de compstatina se administra mediante inyección intravítreo a sujetos que reciben terapia con VEGF. En algunas realizaciones, los sujetos tratados tanto con terapia anti-VEGF como con terapia con un ACAP-40 reciben dosis de un agente anti-VEGF a intervalos más largos que los utilizados para sujetos comparables que de otro modo no recibirían terapia con el 50 ACAP-40. Se han desarrollado diversos agentes anti-VEGF (revisados, por ejemplo, en Lanzetta Br J Ophthalmol 97:1497, 2013). Por ejemplo, los regímenes de dosificación notificados para determinados agentes anti-VEGF incluyen inyecciones intravítreas de ranibizumab 0,5 mg o bevacizumab 1,25 mg administradas cada 4 semanas (q4) o PRN; en algunas realizaciones, dichos regímenes sirven como regímenes de referencia apropiados con respecto a los cuales se evalúan los regímenes de terapia combinada anti-VEGF descritos en el presente documento.

55 55 A la luz de la divulgación proporcionada en el presente documento, incluido en este Ejemplo, los expertos en la materia apreciarán que se proporcionan ciertos regímenes de terapia de combinación, por ejemplo, de acuerdo con los cuales cada uno de un ACAP-40 y un agente anti-VEGF se administra por vía intravítreo; en algunas realizaciones, el ACAP-40 y el anti-VEGF pueden administrarse juntos en una única inyección para ciertas dosis (aunque no necesariamente todas). En algunas realizaciones, se administran menores dosis del anti-VEGF en un período de tiempo seleccionado que las que se administran en ausencia de la administración del ACAP-40.

Ejemplo 25: Ensayo clínico de fase 2 con dosis única ascendente de ACAP-40 en sujetos con atrofia geográfica

65 65 Se realiza un ensayo clínico aleatorizado, enmascarado simple y controlado con simulacro de ACAP-40 en pacientes con AG. En el ensayo se inscriben aproximadamente 240 pacientes. Los pacientes del ensayo tienen un diagnóstico

de AG de la mácula secundario a degeneración macular asociada a la edad, confirmado en los 14 días anteriores a la aleatorización por el centro de lectura central mediante imágenes de autofluorescencia del fondo de ojo, así como los siguientes criterios: El área total de GA debe ser $\geq 2,5 \text{ mm}^2$ y $\leq 17,5 \text{ mm}^2$ (1 y 7 áreas de disco [DA] respectivamente), determinadas mediante imágenes de cribado de FAF.

- 5 Los pacientes son aleatorizados de forma 2:2:1:1 para recibir ACAP-40 mensualmente, ACAP-40 cada dos meses, inyección simulada mensualmente o inyección simulada cada dos meses. Los pacientes de los brazos de ACAP-40 reciben una dosis de 15 mg de ACAP-40, injectada en el humor vítreo en un volumen de 0,1 cc, mensualmente o cada dos meses durante 12 meses, seguidos de seis meses de seguimiento tras finalizar el tratamiento. En las 10 cohortes de inyección simulada, los pacientes reciben una inyección simulada. Se evalúan la seguridad, la tolerabilidad, la FC y la evidencia de actividad de las inyecciones intravítreas múltiples de ACAP-40 en pacientes con AG en al menos un ojo. El criterio principal de valoración de la eficacia es el cambio en el tamaño de la lesión de AG desde el inicio hasta el mes 12. El ensayo está diseñado para detectar una reducción de al menos el 30% en el crecimiento del tamaño de la lesión entre los brazos de ACAP-40 y los brazos controlados con simulacro desde el 15 inicio hasta el mes 12. El criterio de valoración primario de seguridad es el número y la gravedad de los acontecimientos adversos locales y sistémicos emergentes del tratamiento.

Ejemplo 26: Ensayo clínico de fase 2 de dosis única ascendente de ACAP-40 en sujetos con DMAE intermedia

- 20 Se realiza un ensayo clínico aleatorizado, enmascarado simple y controlado con simulacro de ACAP-40 en pacientes con DMAE intermedia. Los pacientes del ensayo tienen un diagnóstico de degeneración macular relacionada con la edad intermedia. Uno de los objetivos del ensayo es evaluar si el ACAP-40 puede prevenir la progresión de la DMAE intermedia a AG o DMAE húmeda.
- 25 Los pacientes son aleatorizados de forma 2:2:1:1 para recibir ACAP-40 mensualmente, ACAP-40 cada dos meses, inyección simulada mensualmente o inyección simulada cada dos meses. Los pacientes de los brazos de ACAP-40 reciben una dosis de 15 mg de ACAP-40, injectada en el humor vítreo en un volumen de 0,1 cc, mensualmente o cada dos meses durante al menos 12 meses, seguidos de seis meses de seguimiento tras finalizar el tratamiento. En las 30 cohortes de inyección simulada, los pacientes reciben una inyección simulada. Se evalúan la seguridad, la tolerabilidad y las pruebas de actividad de las inyecciones intravítreas múltiples de ACAP-40 en pacientes con DMAE intermedia en al menos un ojo. Los criterios de valoración de la eficacia incluyen la incidencia de progresión de la DMAE intermedia a AG y/o DMAE húmeda, representando una prueba de eficacia una menor incidencia en los pacientes tratados con ACAP-40 en relación con los pacientes que reciben inyecciones simuladas, y el cambio en el 35 número y/o volumen de drusas de alto riesgo y el número y/o volumen total de drusas. Una mayor reducción del número, el volumen y/o la tasa de crecimiento de las drusas en los pacientes tratados con ACAP-40 en relación con los pacientes que reciben inyecciones simuladas representa una prueba de eficacia. El criterio de valoración primario de seguridad es el número y la gravedad de los acontecimientos adversos locales y sistémicos emergentes del tratamiento.

40 **Ejemplo 27: Estudios preclínicos de CA28 inhalado**

Se realizaron estudios de inhalación de dosis única o dosis repetidas en perro y mono cynomolgus. No hubo hallazgos relacionados con el fármaco en ningún animal a las dosis inhaladas más altas probadas. Estas dosis fueron de 25 mg/kg/día en un estudio de dosis repetidas de 7 días en el perro, 80 mg/kg en un estudio de dosis única en el mono y 45 30 mg/kg/día en una dosis repetida de 14 días en el mono.

Se utilizó un modelo de provocación con *Ascaris suum* para investigar el efecto farmacológico del CA28 *in vivo* en monos cynomolgus en comparación con los corticosteroides. Las dosis de 20 mg/día o 15 mg/kg/día (durante 14 días consecutivos) de CA28 nebulizado tuvieron un efecto farmacológico en el control de los niveles de citocinas inflamatorias en los pulmones (medidos en el líquido de lavado bronqueoalveolar) tras la provocación con alérgenos, tanto durante el periodo de tratamiento de 14 días como 28 días después del cese del tratamiento, tras el lavado del fármaco.

55 **Ejemplo 28: Ensayo clínico de fase 1 de dosis única y dosis múltiple ascendente de CA28 inhalado en sujetos sanos**

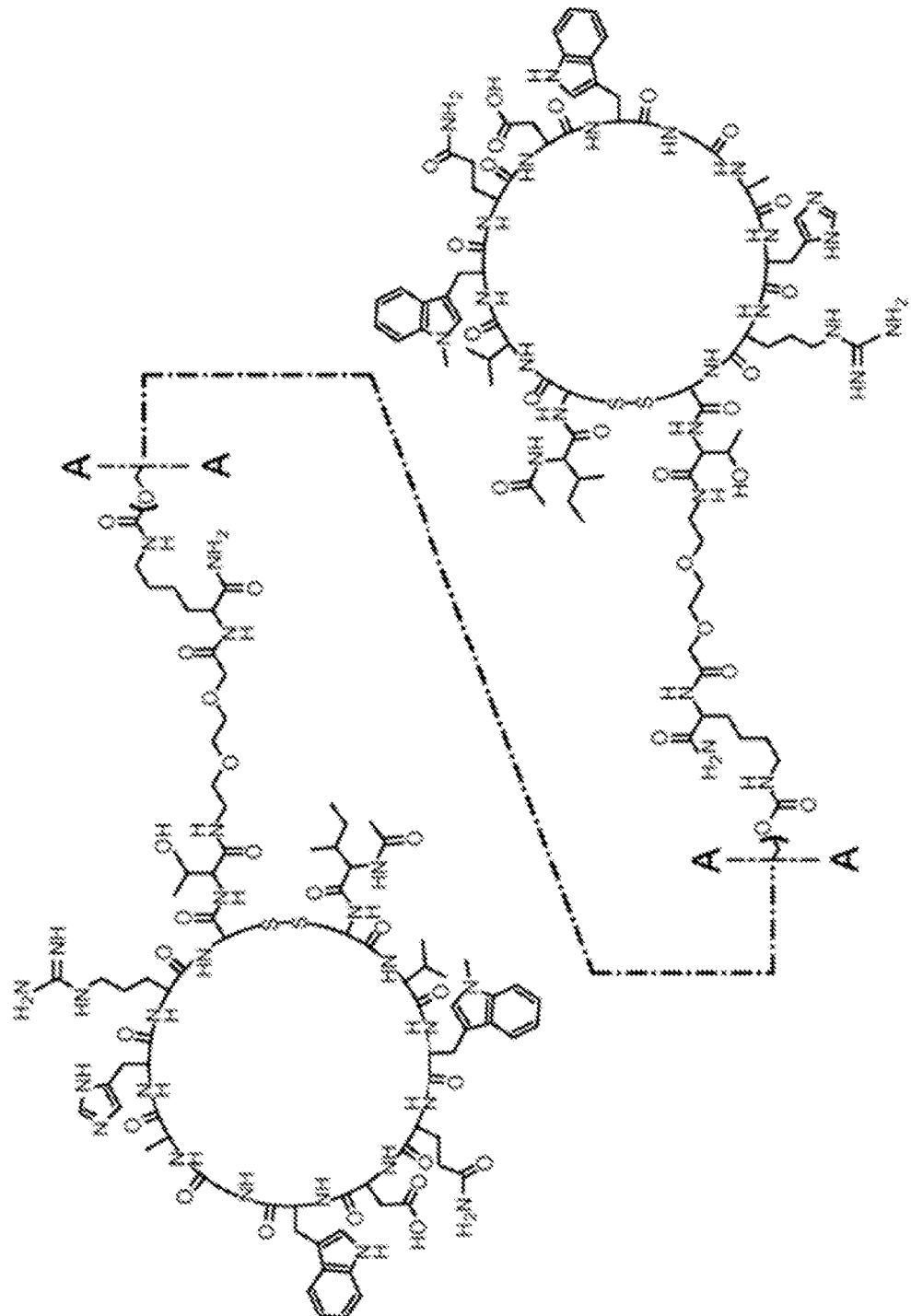
Se realizó un ensayo clínico de fase 1, abierto, aleatorizado, controlado con placebo, de dosis única y múltiple ascendente de una formulación diaria nebulizada de un análogo de compstatina (CA28) para evaluar la seguridad, la tolerabilidad y la FC de dosis únicas y múltiples inhaladas del fármaco en voluntarios sanos. La solución de CA28 en 60 (glicerol al 2%) o placebo (glicerol al 2%) se administró mediante un nebulizador de chorro PARI LC Sprint® con interruptor, accionado por un compresor PARI TurboBOY® S. En la parte del ensayo correspondiente a la dosis única ascendente, se inscribieron 16 sujetos en cuatro cohortes de cuatro sujetos cada una. A estos sujetos se les administró una dosis única de CA28 en dosis que oscilaban entre 20 mg y 350 mg (20, 60, 150 o 350 mg) y se les monitorizó durante 14 días después del tratamiento. En esta parte del ensayo, el CA-28 fue bien tolerado y no se notificaron 65 acontecimientos adversos graves.

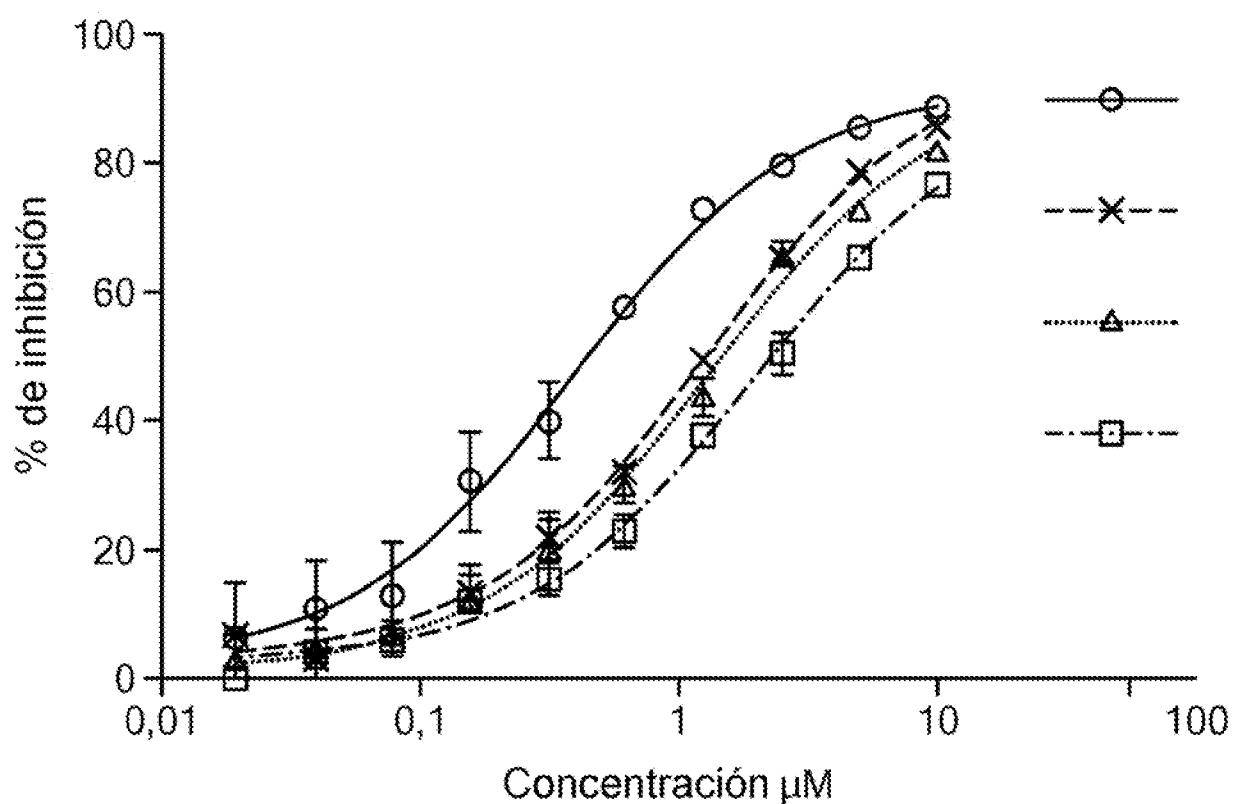
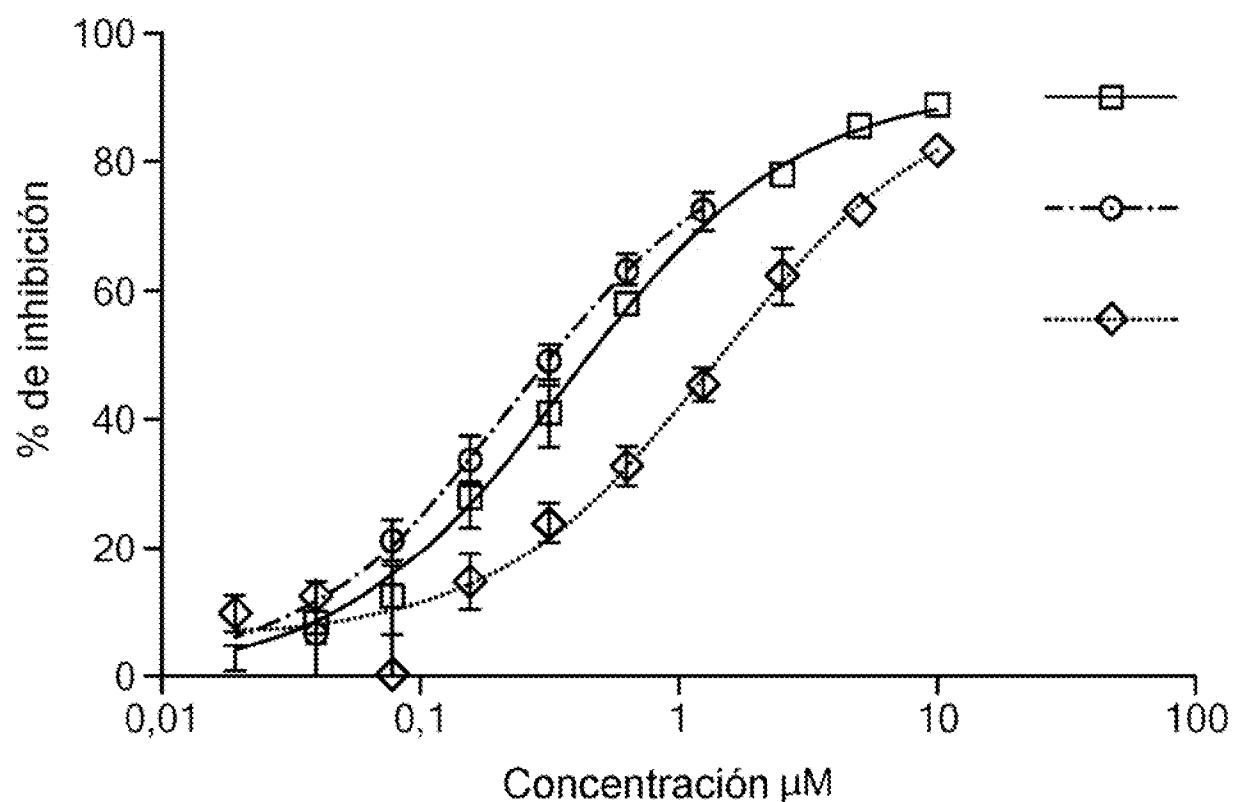
- Se inscribieron cuatro sujetos en la primera cohorte de la parte del ensayo con dosis múltiples ascendentes. Estos sujetos debían recibir 14 días consecutivos de tratamiento con una dosis de 60 mg/día del fármaco. Sin embargo, tras nueve días de tratamiento con la dosis de 60 mg/día, un sujeto desarrolló signos y síntomas consistentes con una posible infección bacteriana que se consideró posiblemente relacionada con la farmacología del fármaco. El ensayo
- 5 se interrumpió y posteriormente se reanudó, con los sujetos recibiendo 30 mg/día. Otro sujeto desarrolló signos y síntomas consistentes con una posible infección bacteriana que se consideró posiblemente relacionada con la farmacología del fármaco tras 10 días de tratamiento con la dosis de 30 mg/día. El ensayo se dio entonces por terminado.
- 10 Ambos sujetos respondieron en cuestión de horas al tratamiento antibiótico de primera línea, lo que es indicativo de una patogénesis bacteriana. En este ensayo, se vacunó a los sujetos contra la *Neisseria meningitidis* y se les vigiló estrechamente para detectar signos de infecciones. Aunque los cultivos bacterianos fueron todos negativos, se cree que el *Haemophilus influenzae* o el *Streptococcus pneumoniae* podrían haber estado implicados en los episodios de fiebre que se observaron porque se sabe que los individuos con deficiencia de C3 tienen un mayor riesgo de infección
- 15 por *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*. Existen vacunas contra estos tres patógenos y se cree que el riesgo de infección puede abordarse mediante la vacunación, potencialmente con la adición de antibióticos profilácticos (por ejemplo, penicilina V).

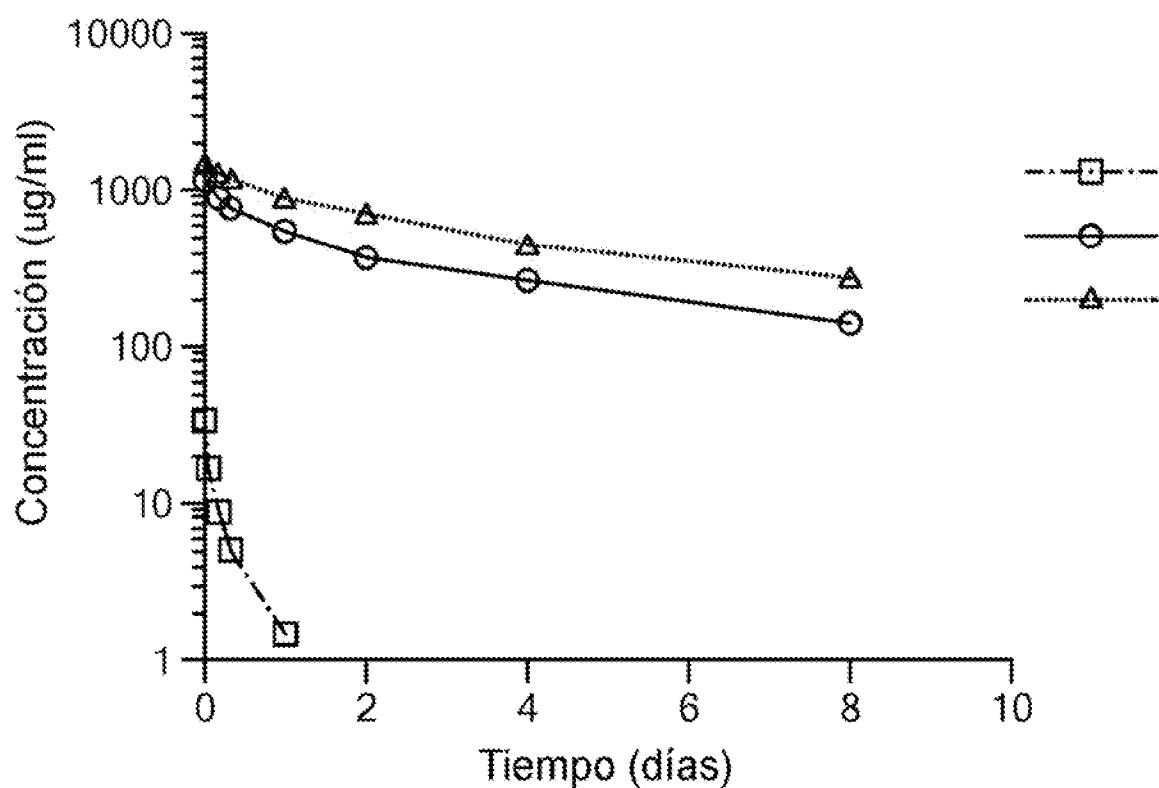
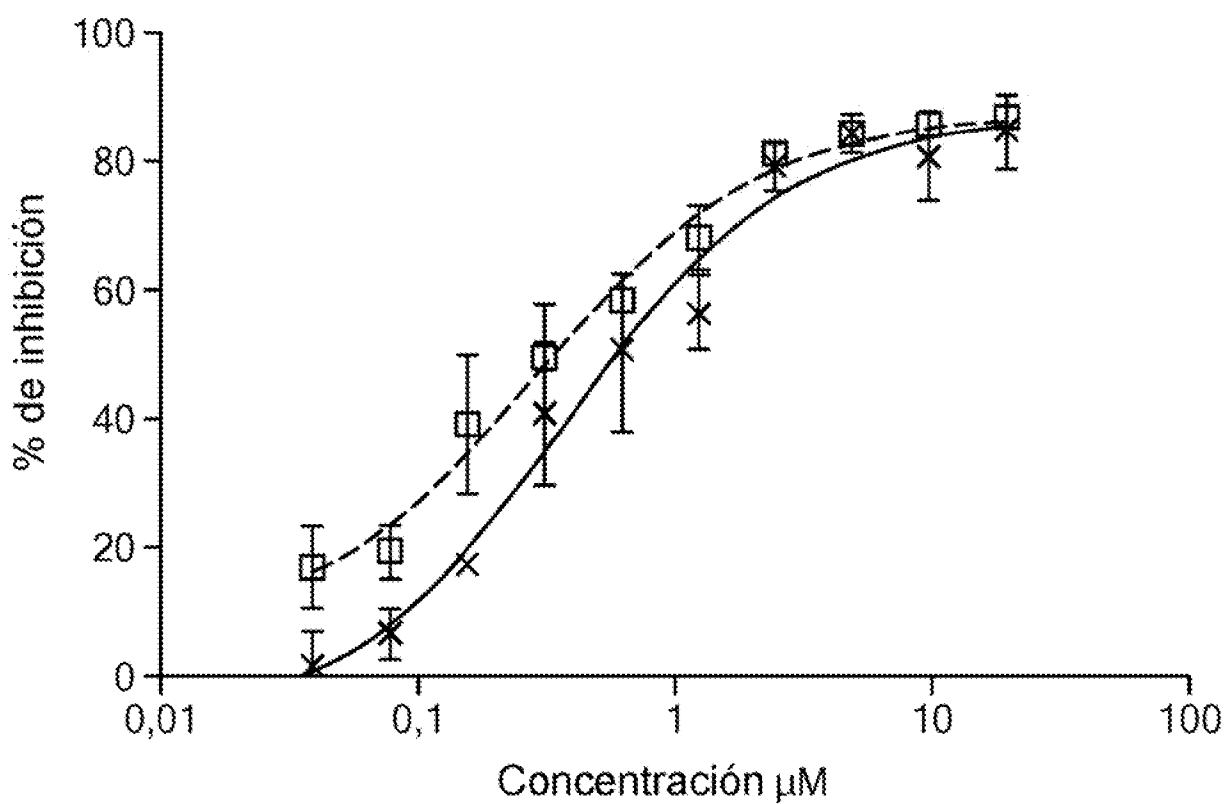
REIVINDICACIONES

1. Un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento en un sujeto que lo necesite; en donde
- 5 (a) dicho ACAP consiste en un resto reductor del aclaramiento unido a dos restos de análogo de compstatina, en donde
- 10 cada resto de análogo de compstatina consiste en un péptido cíclico que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 28 extendida por un resto de lisina en el extremo C, en donde el resto de lisina se separa de la porción cíclica del péptido por un espaciador de 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEAc); el resto reductor del aclaramiento comprende un polímero, en donde cada extremo del polímero está unido al grupo amino de la cadena lateral del resto de lisina de uno de los restos de análogo de compstatina mediante un carbamato, en donde el polímero es PEG que tiene un peso molecular promedio de 40 kD; y
- 15 (b) dicho trastorno ocular mediado por el complemento es degeneración macular asociada a la edad (DMAE), opcionalmente atrofia geográfica o DMAE intermedia; y
- 20 (c) dicho uso comprende administrar por vía intravítreo dicho ACAP a un ojo de dicho sujeto en una cantidad de entre 10 mg y 20 mg, opcionalmente en donde la cantidad es de 15 mg.
2. Un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el ACAP se administra por vía intravítreo mensualmente o cada dos meses.
- 25 3. Un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde dicho uso comprende administrar dicho ACAP a dicho sujeto en forma de una composición que comprende dicho ACAP a una concentración de 100 a 200 mg/ml.
- 30 4. Un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde dicho uso comprende administrar dicho ACAP a dicho sujeto en forma de una composición que comprende dicho ACAP a una concentración de 150 mg/ml.
- 35 5. Un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicho uso comprende administrar dicho ACAP al ojo de dicho sujeto en un volumen de 90 a 150 µl.
- 35 6. Un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicho uso comprende administrar dicho ACAP al ojo de dicho sujeto en un volumen de 100 µl.
- 40 7. Una dosis unitaria de un ACAP para su uso en el tratamiento de un trastorno ocular mediado por el complemento en un sujeto que lo necesite, en donde
- 40 (a) dicho ACAP consiste en un resto reductor del aclaramiento unido a dos restos de análogo de compstatina, en donde
- 45 cada resto de análogo de compstatina consiste en un péptido cíclico que tiene la secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 28 extendido por un resto de lisina en el extremo C, en donde el resto de lisina se separa de la porción cíclica del péptido por un espaciador de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEAc); el resto reductor del aclaramiento comprende un polímero, en donde cada extremo del polímero está unido al grupo amino de la cadena lateral del resto de lisina de uno de los restos de análogo de compstatina mediante un carbamato, en donde el polímero es PEG que tiene un peso molecular promedio de 40 kD; y
- 50 (b) dicho trastorno ocular mediado por el complemento es degeneración macular asociada a la edad (DMAE), opcionalmente atrofia geográfica o DMAE intermedia; y
- 55 (c) la dosis unitaria es para administración intravítreo y la cantidad de dicha dosis unitaria es de entre 10 mg y 20 mg, opcionalmente 15 mg; y dicho uso comprende administrar dicha dosis unitaria a un ojo de dicho sujeto.
- 60 8. La dosis unitaria para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, que además comprende un transportador farmacéuticamente aceptable.
- 65 9. Una dosis unitaria para su uso de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en donde la concentración del ACAP en la dosis unitaria es de 100 a 200 mg/ml.
10. Una dosis unitaria para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la concentración del ACAP en la dosis unitaria es de 150 mg/ml.

11. Un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 o una dosis unitaria para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en donde el ACAP se administra utilizando una aguja del calibre 27, u opcionalmente usando una aguja del calibre 25, u opcionalmente usando una aguja del calibre 26, u opcionalmente usando una aguja del calibre 28, u opcionalmente usando una aguja del calibre 29.
- 5 12. Un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) para su uso o la dosis unitaria para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la aguja es una aguja de paredes finas.
- 10 13. Un análogo de compstatina de acción prolongada (ACAP) para su uso o la dosis unitaria para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el ACAP comprende el compuesto:



**FIG. 1****FIG. 2**

**FIG. 3****FIG. 4**

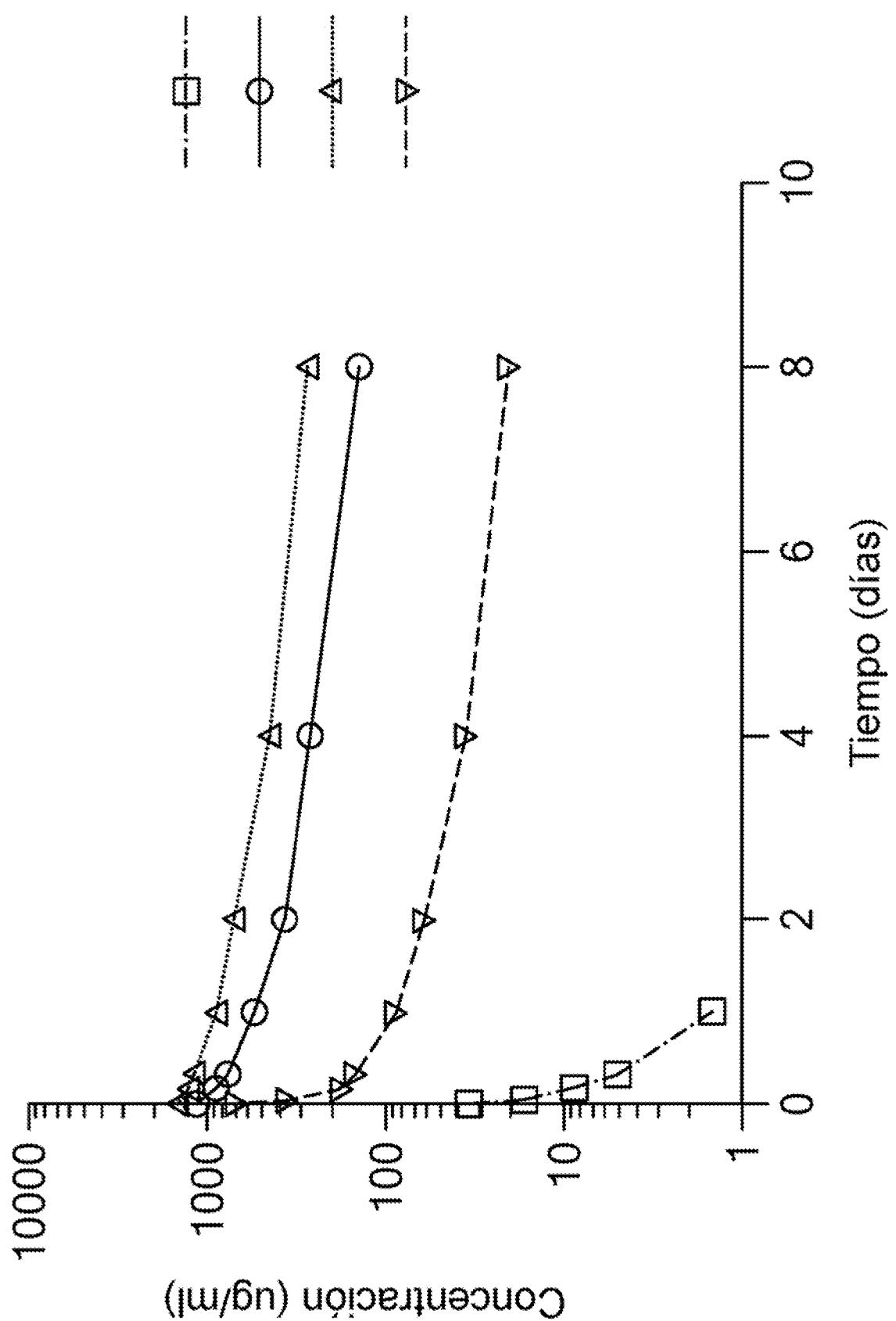


FIG. 5

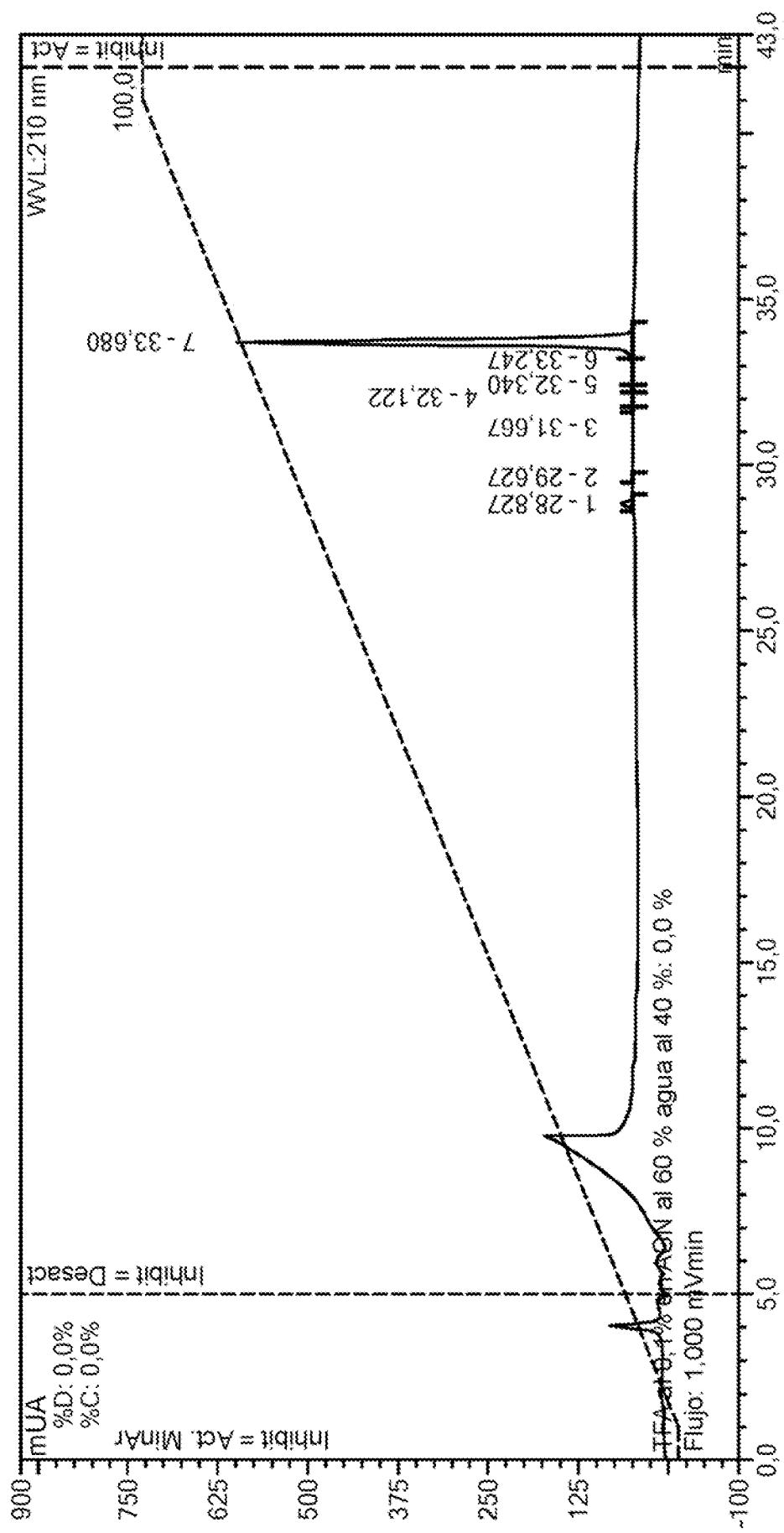


FIG. 6

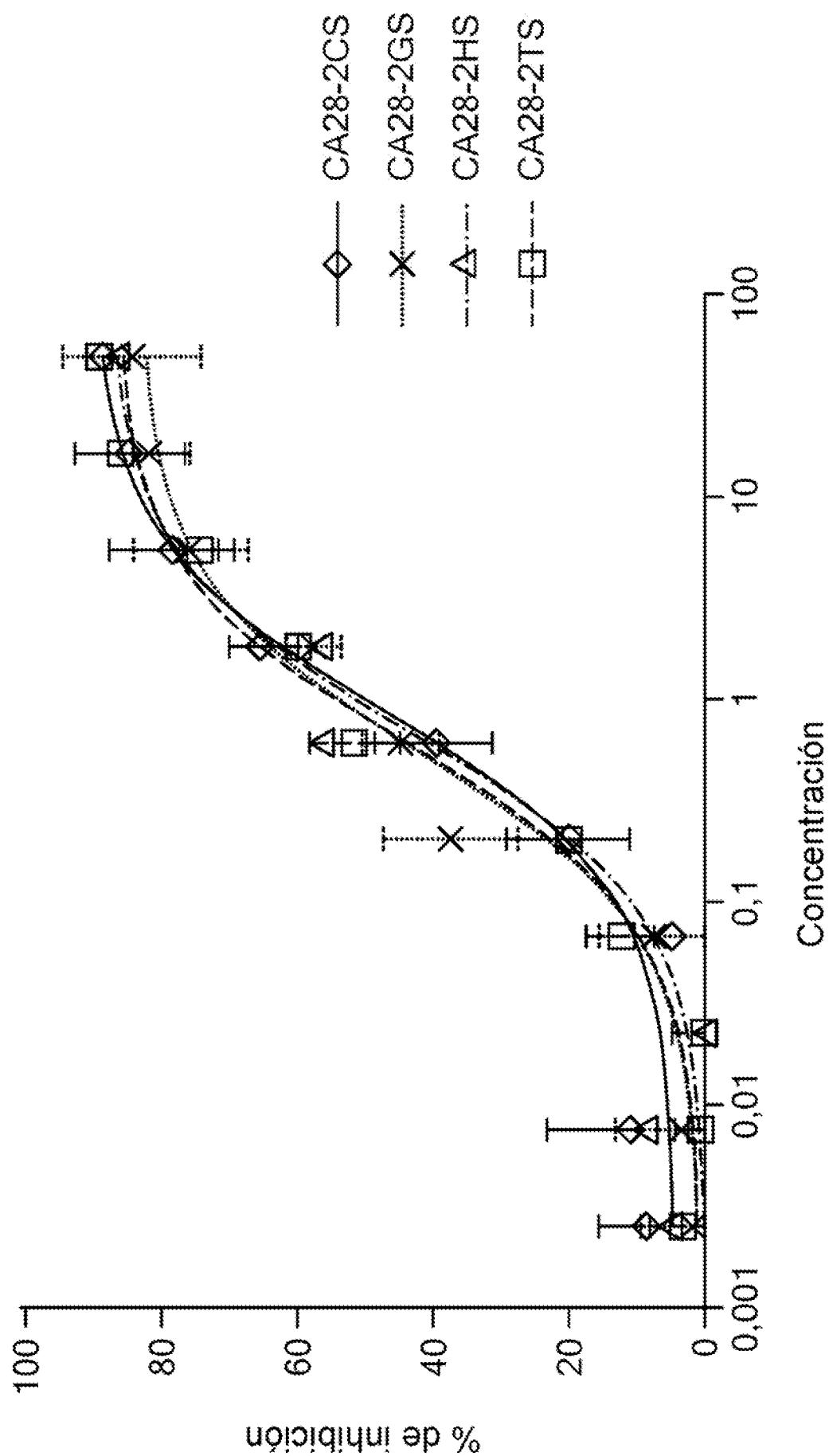
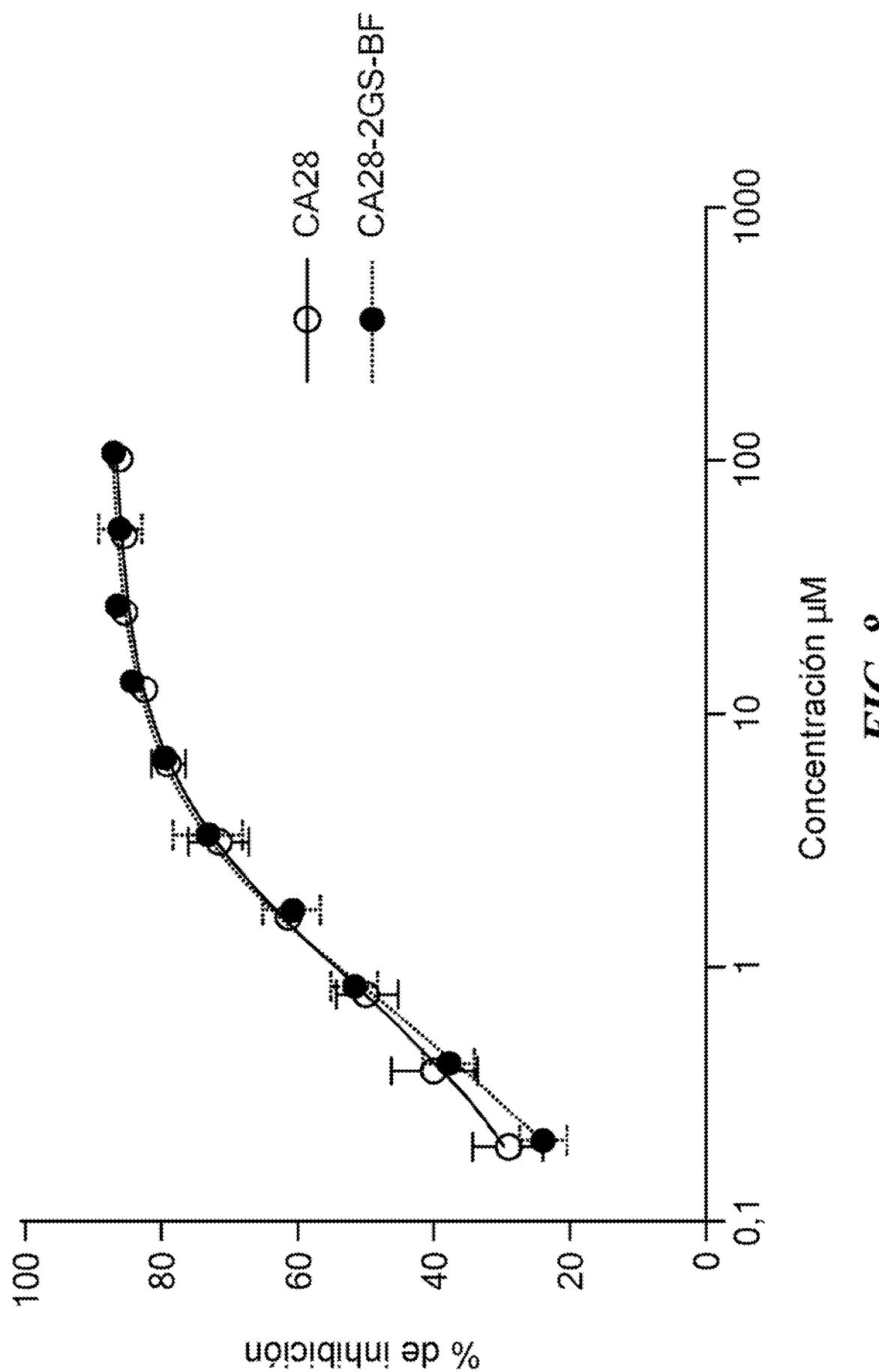


FIG. 7



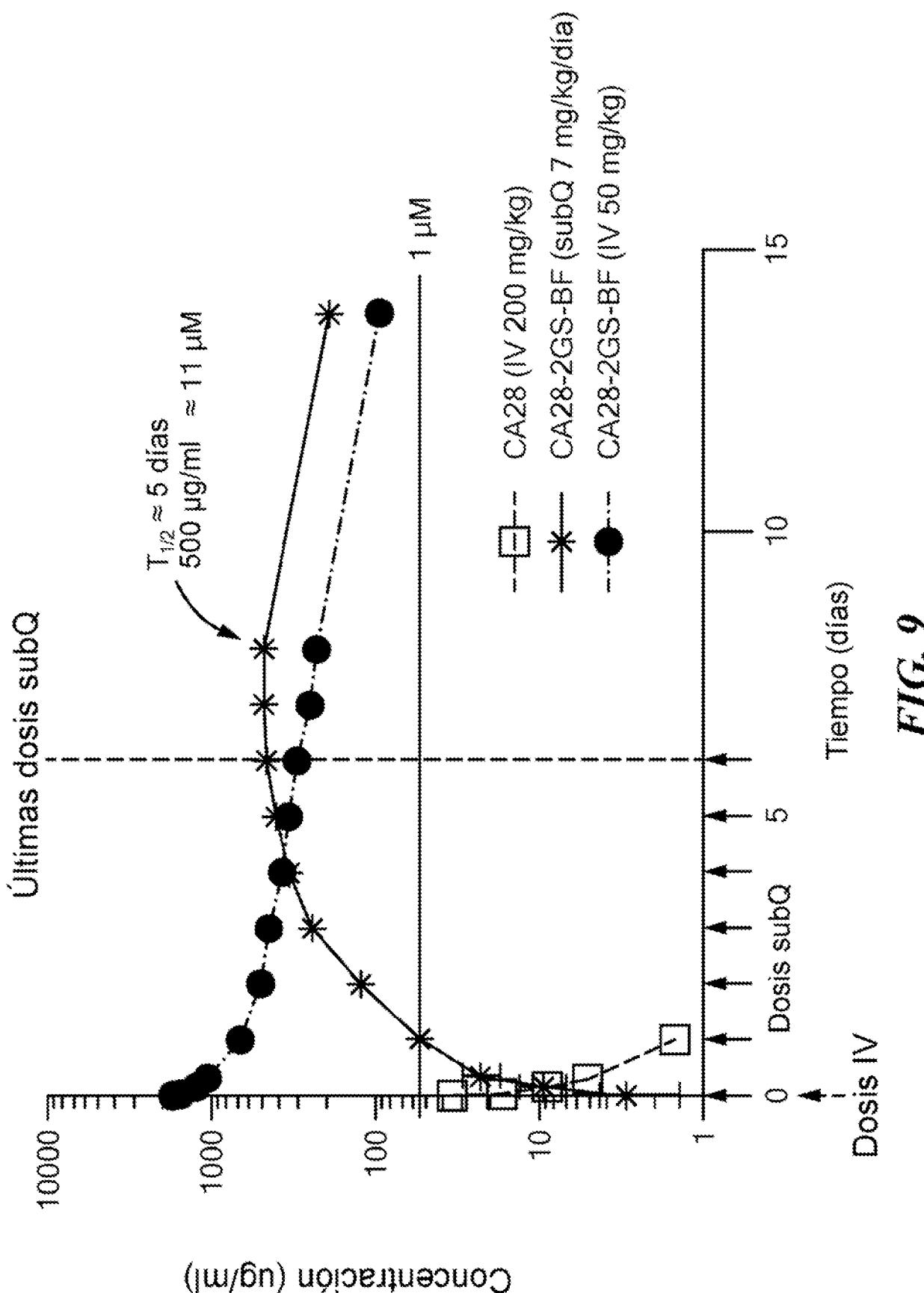


FIG. 9

Inhibición de la ruta clásica CA28 frente a CA28-2TS-BF

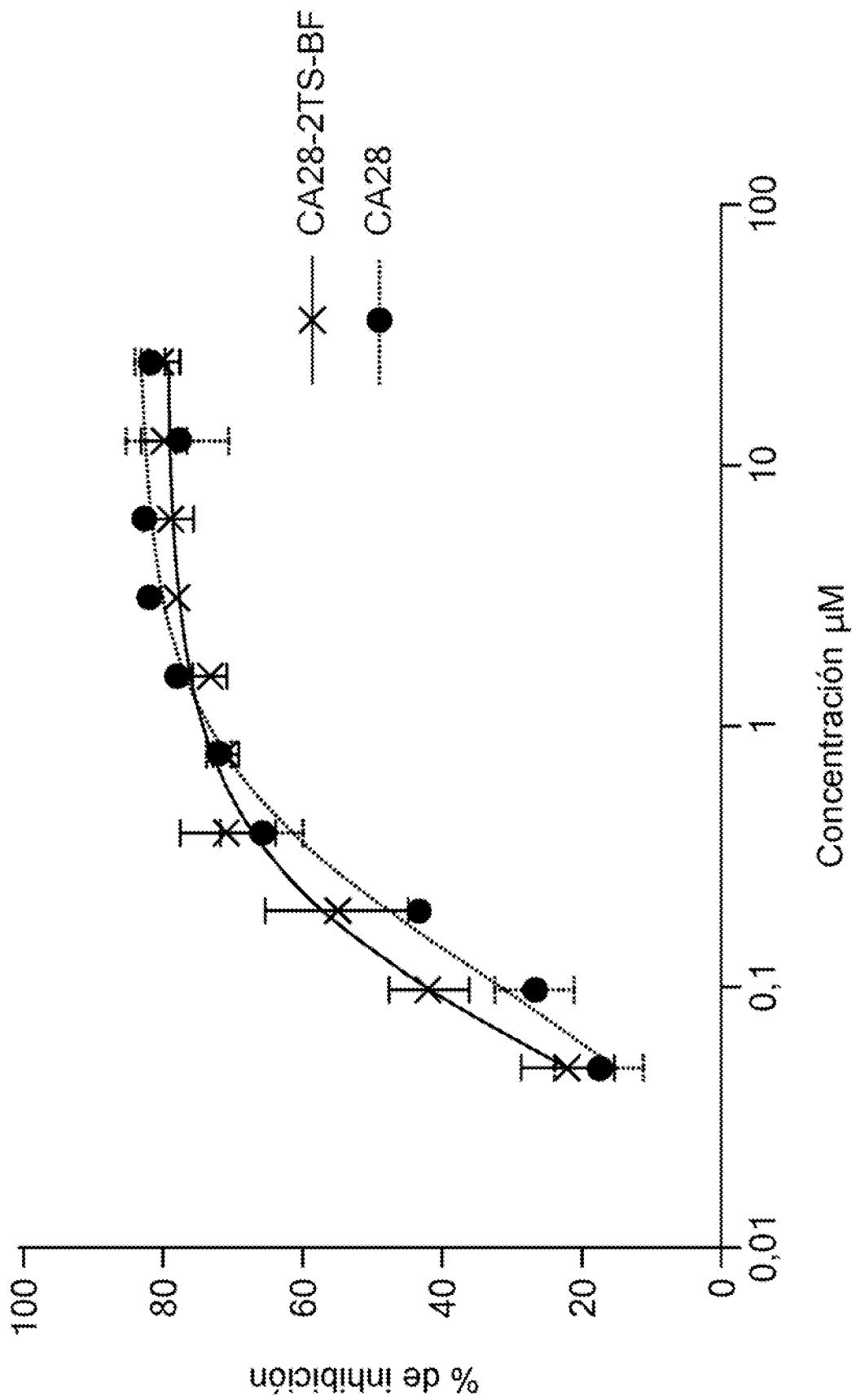


FIG. 10(A)

Inhibición de la ruta alterativa CA28 frente a CA28-2TS-BF

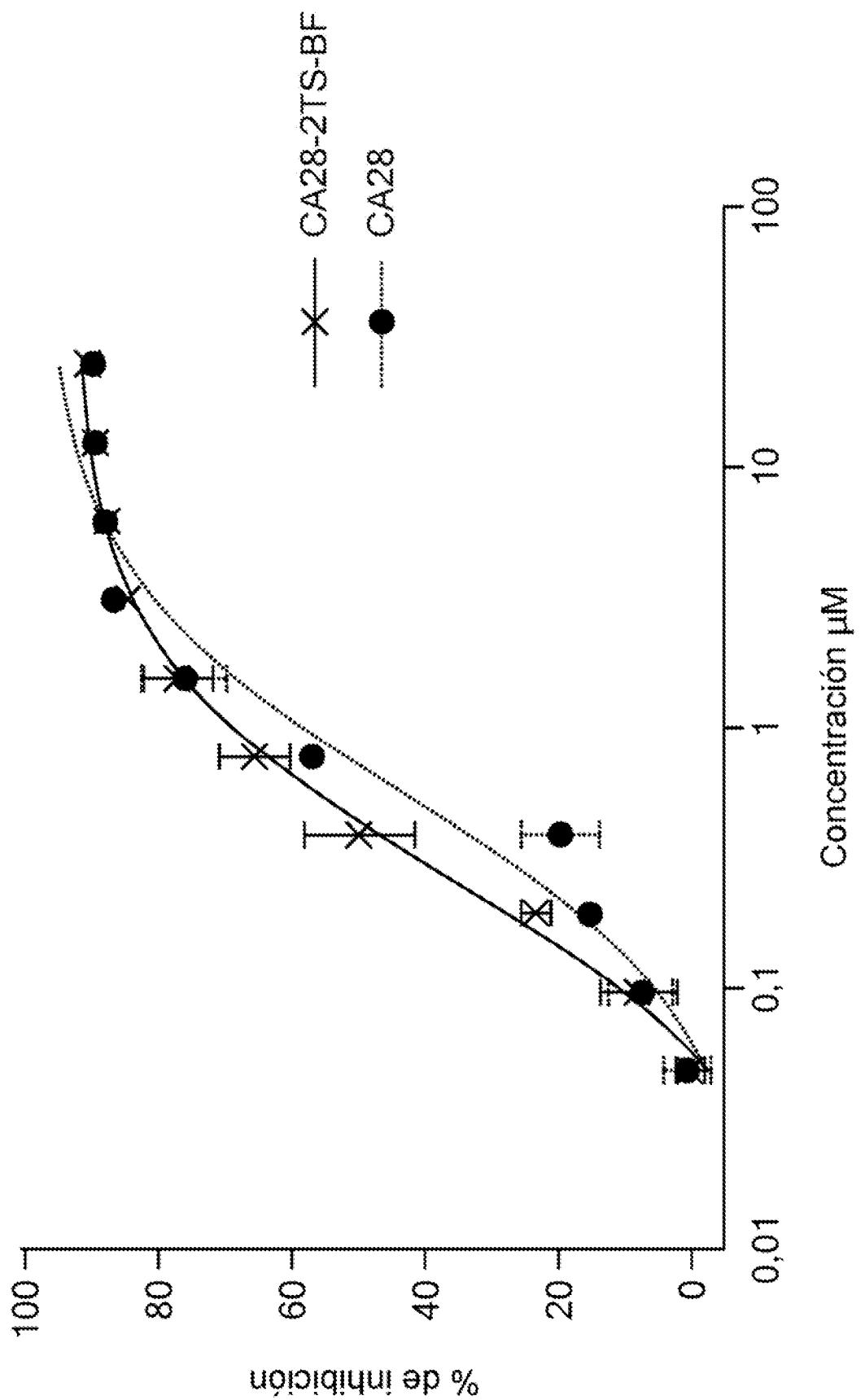


FIG. 10(B)

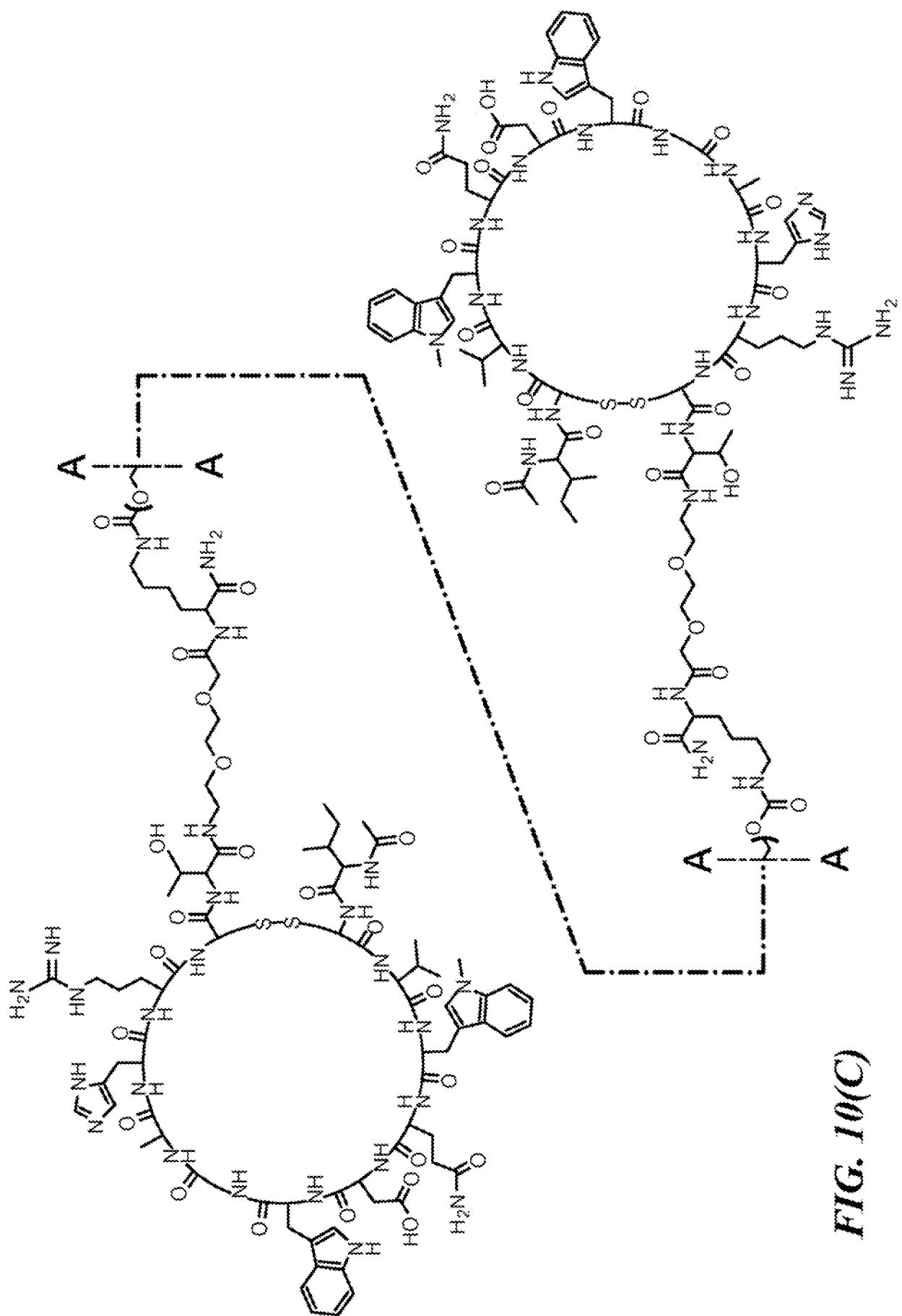
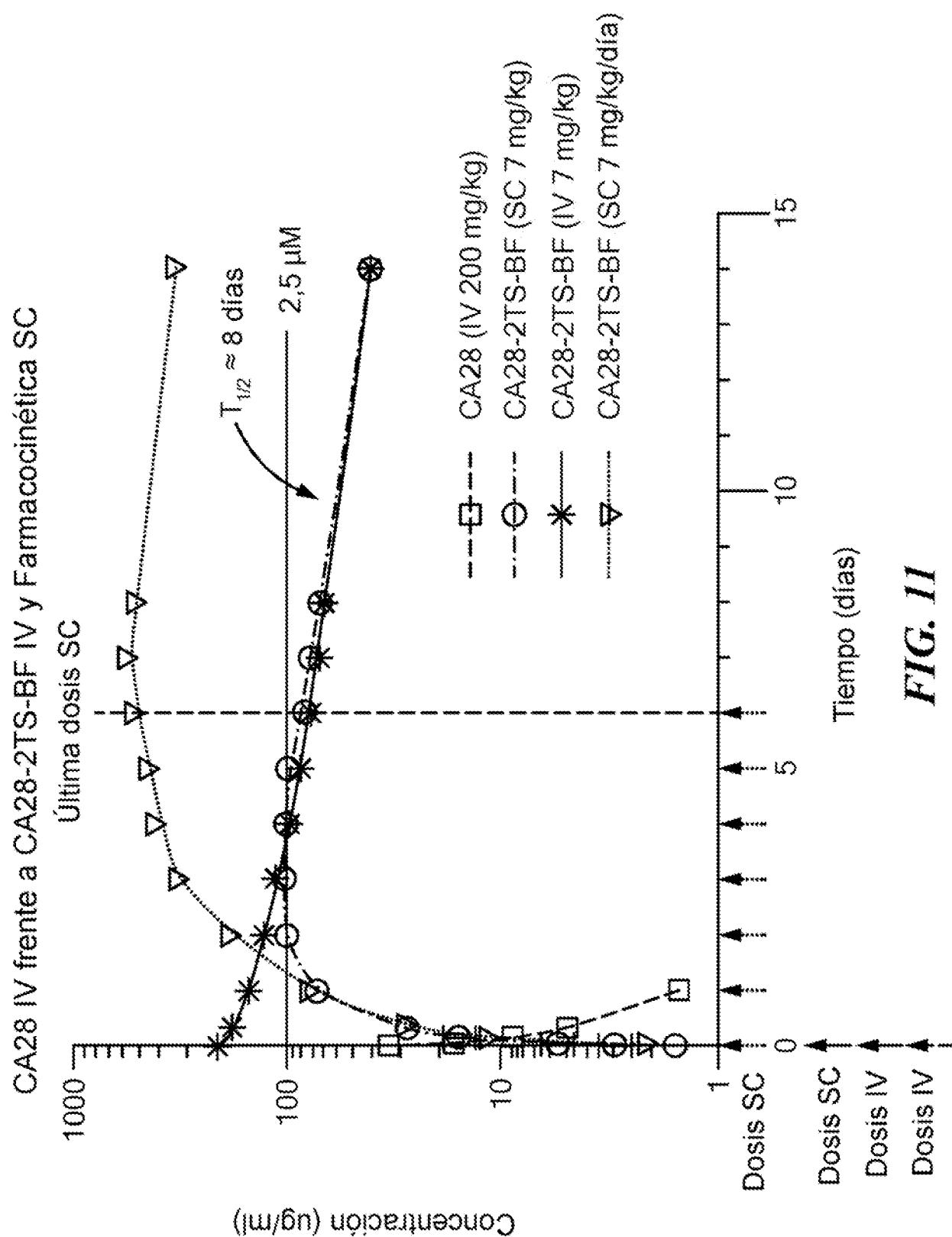


FIG. 10(C)



Experimento de dilución - efecto de CA28 en la carga de C3

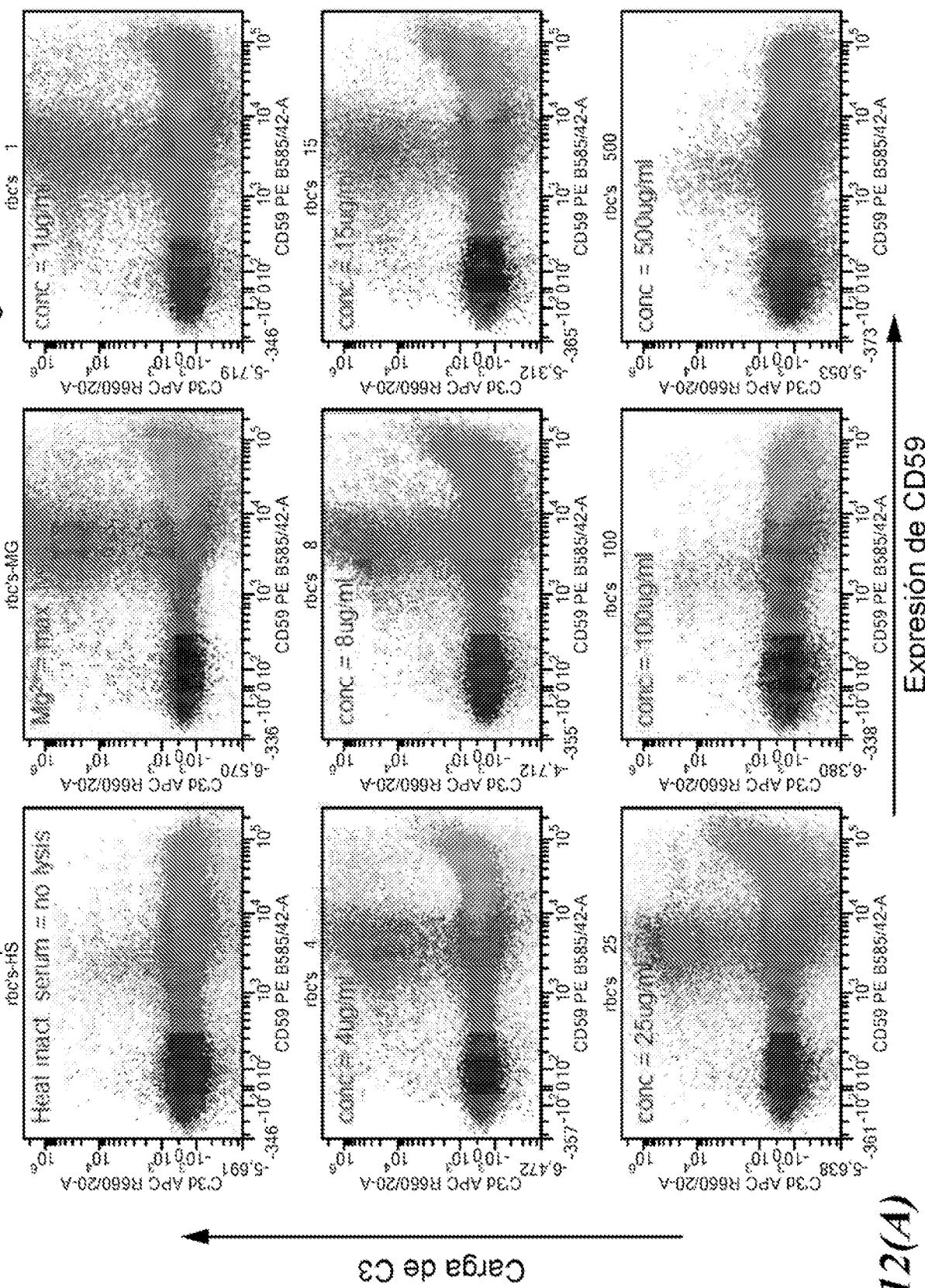


FIG. 12(A)

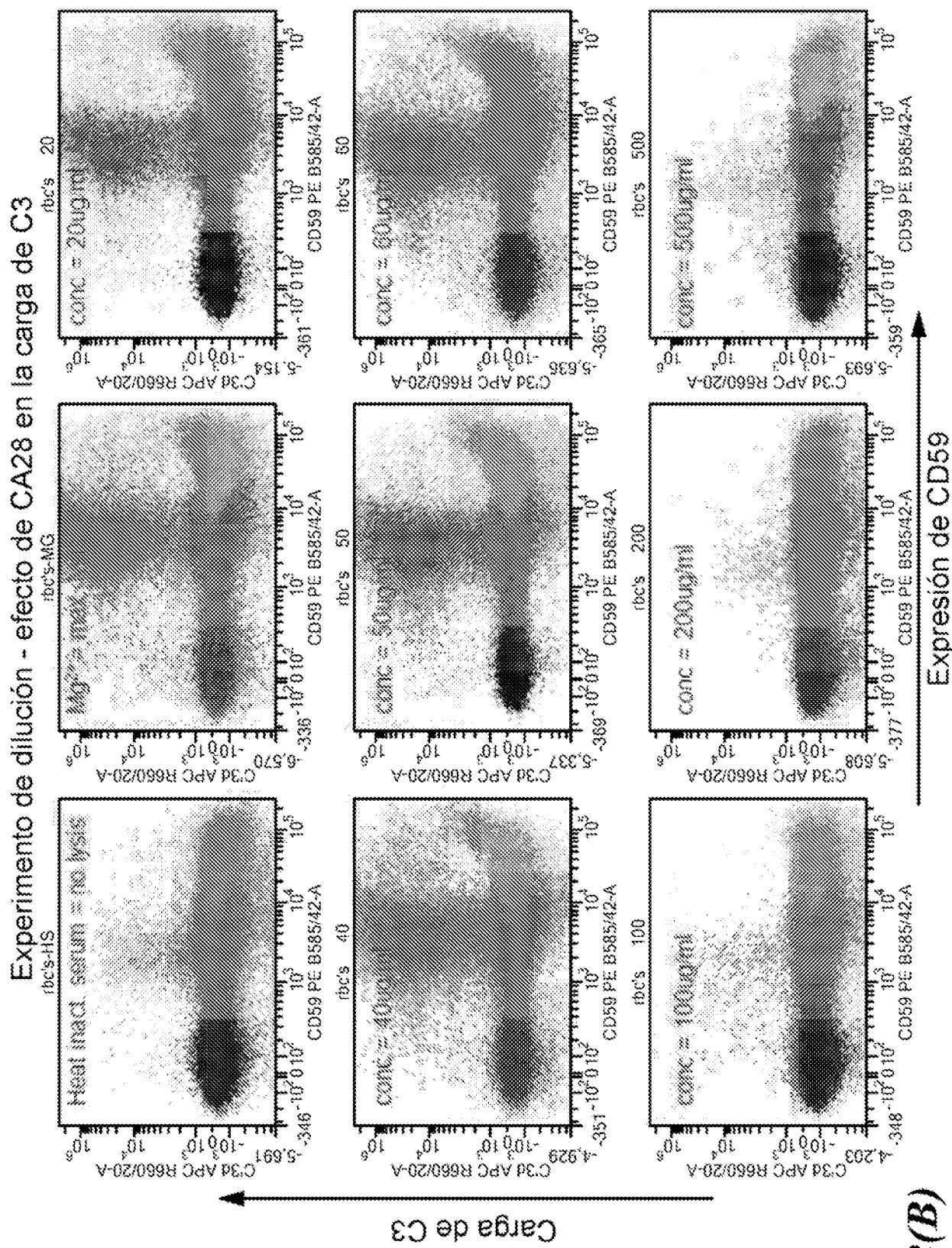


FIG. 12(B)

Glóbulos rojos de HPN con carga de C3 durante una prueba de Ham modificada

Sin inhibidor

Eculizumab (inhibidor de C5)

CA28-2GS-BF (inhibidor de C3)

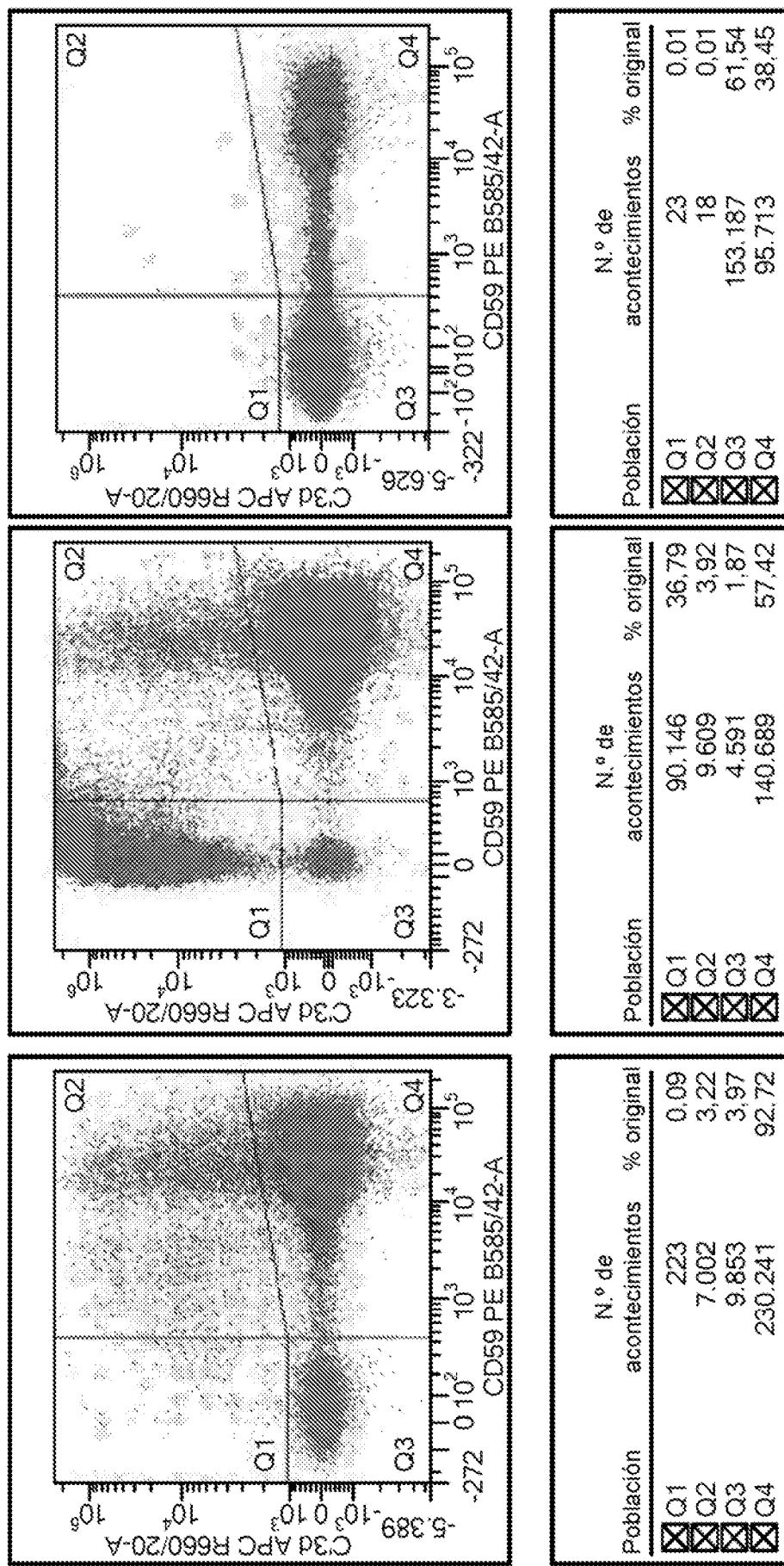
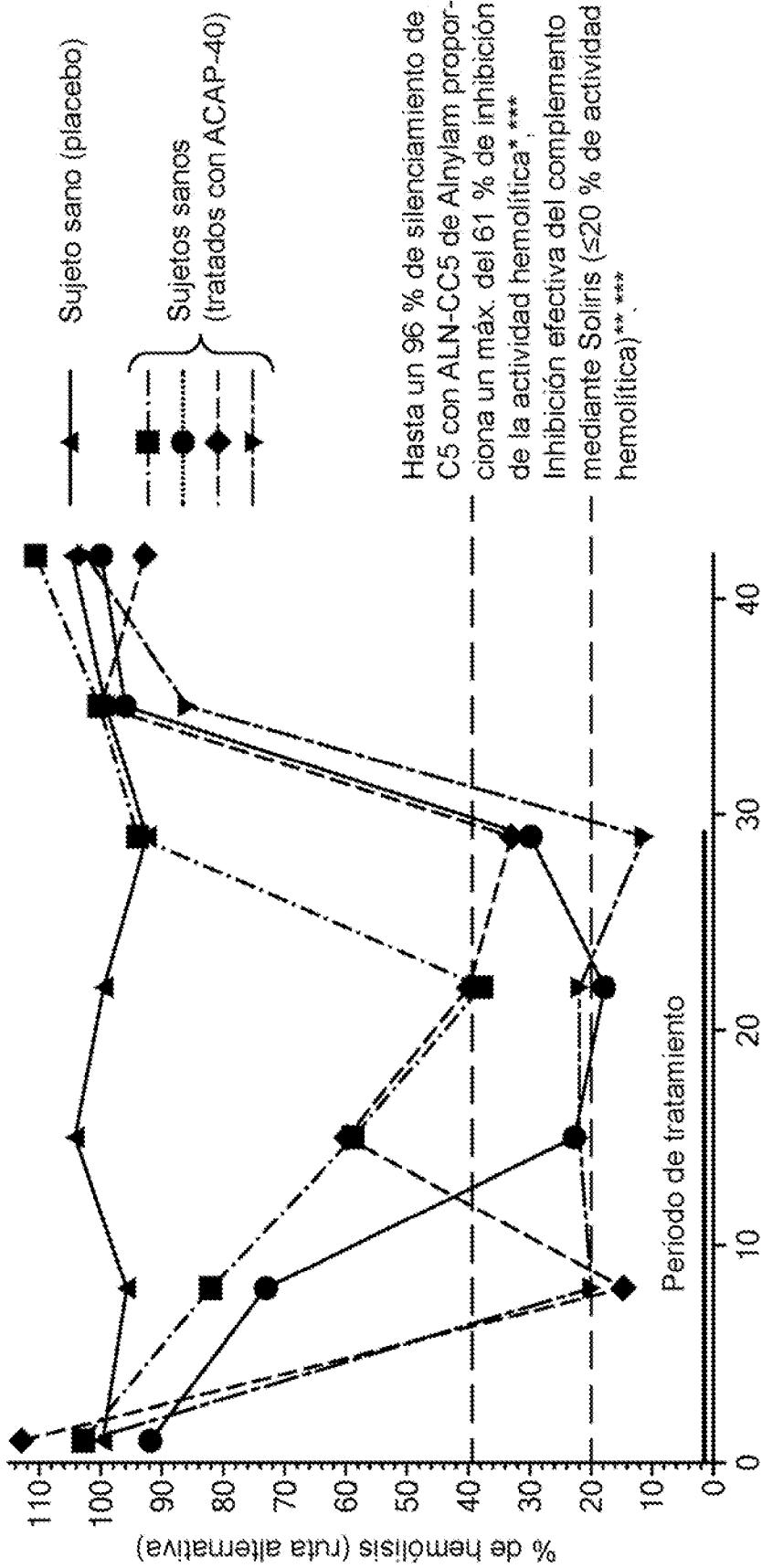


FIG. 13

ACAP-40 a 180 mg/día durante 28 días reduce la actividad hemolítica (cohorte 3)

Apellis

Hemólisis de glóbulos rojos por la ruta alternativa (dilución de plasma 1:4)



Sujeto sano (placebo)

Sujetos sanos (tratados con ACAP-40)

Hasta un 96 % de silenciamiento de C5 con ALN-CC5 de Alnylam proporciona un máx. del 61 % de inhibición de la actividad hemolítica*.
Inhibición efectiva del complemento mediante Soliris (≤ 20 % de actividad hemolítica)**.***

* Alnylam, "RNAi Roundtable: ALN-CC5 for the treatment of Complement-Mediated Disease," July 23, 2015

** A. Hill et al., *Blood* 106 (7), p.2559

*** Los ensayos de actividad hemolítica usados pueden variar

FIG. 14