

ANTICUERPO ANTI-FcRn O FRAGMENTO DE UNIÓN A ANTÍGENO DEL MISMO CON ESTABILIDAD MEJORADA

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

[001] La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud coreana n.º 10-2022-0066176, presentada el 30 de mayo de 2022, las solicitudes provisionales de patente estadounidenses n.º 63/352.948, presentada el 16 de junio de 2022, n.º 63/370.772, presentada el 8 de agosto de 2022, n.º 63/377.283, presentada el 27 de septiembre de 2022, y n.º 63/499.116, presentada el 28 de abril de 2023, cada una de las cuales se incorpora aquí por referencia en su totalidad.

Incorporación por referencia de la lista de secuencias

[002] El contenido del archivo de texto denominado MUNO-008_001WO_SeqList.xml, que se creó el 25 de mayo de 2023 y tiene un tamaño de 61,442 bytes, se incorpora por la presente como referencia en su totalidad.

Campo técnico

[003] La presente invención se refiere a un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo con estabilidad mejorada y a sus usos.

Antecedentes de la técnica

[004] Las causas de las enfermedades autoinmunes se han estudiado durante mucho tiempo desde perspectivas genéticas, ambientales e inmunológicas, pero aún se desconoce la causa exacta de la enfermedad. Muchos estudios recientes han revelado que varias enfermedades autoinmunes son causadas por autoanticuerpos de tipo IgG. De hecho, en estudios para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades autoinmunes, se ha investigado ampliamente la relación entre la presencia, ausencia o reducción de autoanticuerpos específicos de la enfermedad y el efecto terapéutico de los mismos.

[005] Como agente terapéutico para dichas enfermedades autoinmunes, el agente de primera línea es una inyección sistémica de esteroides en dosis altas, y cuando los síntomas son graves o difíciles de controlar con esteroides, se aplica la

administración de IGIV (inmunoglobulina intravenosa) en dosis altas o plasmaféresis. Los esteroides en dosis altas pueden tener un efecto débil o tener efectos secundarios graves cuando se usan repetidamente. En el caso de la IGIV y la plasmaféresis, el costo del tratamiento es elevado y existen diversos efectos secundarios y riesgos de infección, por lo que se necesita urgentemente el desarrollo de un agente terapéutico en este campo de tratamiento.

[006] Por otra parte, recientemente se está estudiando un agente terapéutico para enfermedades autoinmunes que utiliza un anticuerpo FcRn (Patente Coreana No. 10-1815265). Se trata de un fármaco con un nuevo mecanismo, en el que el anticuerpo bloquea el FcRn (receptor Fc neonatal), que está implicado en el reciclaje de IgG, y aumenta el catabolismo de IgG en el organismo, disminuyendo así los niveles de autoanticuerpos para tratar las enfermedades. Se espera que este anticuerpo anti-FcRn sea un producto que pueda resolver los problemas de los agentes terapéuticos existentes.

[007] Sin embargo, para aplicar este anticuerpo a enfermedades autoinmunes graves como el pénfigo o la neuromielitis, que son causadas por la generación de un autoanticuerpo contra un autoantígeno en el organismo, es necesario desarrollar un anticuerpo con estabilidad manteniendo la afinidad y la actividad biológica del anticuerpo existente.

Documento de la técnica anterior

Documento de patente

[008] (Documento de patente 1) KR 10-1815265 B

Divulgación de la invención

Problema técnico

[009] En consecuencia, los presentes inventores produjeron variantes del anticuerpo anti-FcRn con estabilidad mejorada al reducir significativamente la tasa de producción de agregados mientras se mantiene la afinidad y la actividad biológica del anticuerpo anti-FcRn HL161AN desarrollado previamente, completando así la presente invención.

Resumen

[0010] En un aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, en la que el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 está sustituido por otro aminoácido, o el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 está sustituido por otro aminoácido. En algunas realizaciones, el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 se sustituye con Ser (S) o Gln (Q). En algunas realizaciones, el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 se sustituye con Ser (S) o Tyr (Y).

[0011] En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, en la que el aminoácido de N25 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 se sustituye con otro aminoácido, y el aminoácido de C32 o Q82 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 se sustituye con otro aminoácido. En algunas realizaciones, el aminoácido de N25 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 se sustituye con Ser (S) o Gln (Q). En algunas realizaciones, el aminoácido de C32 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 se sustituye con Ser (S) o Tyr (Y). En algunas realizaciones, el aminoácido de Q82 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 puede sustituirse con Glu (E), pero no se limita a ello.

[0012] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn o el fragmento de unión a antígeno proporcionado en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende un marco compuesto por la región marco 1 (FR1)

de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15, FR2 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, FR3 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y FR4 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18. En algunas realizaciones, el aminoácido de Q16 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 se sustituye por otro aminoácido. En algunas realizaciones, el aminoácido de Q16 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 se sustituye por Glu (E).

[0013] En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7.

[0014] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn comprende una región Fc, en donde la región Fc es una región Fc IgG1 o una región Fc IgG4. En algunas realizaciones, la región Fc es una región Fc IgG1 que comprende sustituciones de aminoácidos Leu234Ala y Leu235Ala. En algunas realizaciones, la región Fc es una región Fc IgG4 que comprende una mutación S228P.

[0015] En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un polinucleótido que codifica el anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

[0016] En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un vector de expresión recombinante que comprende el polinucleótido.

[0017] En otro aspecto de la presente invención, se proporciona una célula huésped transformada con el vector de expresión recombinante.

[0018] En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para producir un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende cultivar la célula huésped para producir un anticuerpo; y aislar y purificar el anticuerpo producido para recuperar un anticuerpo que se une específicamente a FcRn.

[0019] En otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para tratar una enfermedad autoinmune, que comprende el anticuerpo anti-FcRn o su fragmento de unión a antígeno. En algunas realizaciones, la enfermedad autoinmune es una seleccionada del grupo que consiste en: neutropenia autoinmune, síndrome de Guillain-Barré, epilepsia, encefalitis autoinmune, síndrome de Isaacs, síndrome del nevo, pénfigo vulgar, pénfigo deciduo, penfigoide ampolloso, epidermólisis ampollosa adquirida, penfigoide gestacional, penfigoide de las membranas mucosas, síndrome antifosfolípido, anemia autoinmune, enfermedad de Graves autoinmune, enfermedad ocular tiroidea (TED), síndrome de Goodpasture, miastenia gravis, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, lupus, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), anemia hemolítica autoinmune caliente (WAIHA), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), nefritis lúpica, nefropatía por IgA (enfermedad de Berger), dermatomiositis, miopatía autoinmune necrosante y nefropatía membranosa..

[0020] En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmune en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto el anticuerpo anti-FcRn o su fragmento de unión a antígeno o la composición farmacéutica. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano. En algunas realizaciones, la enfermedad autoinmune se selecciona del grupo que consiste en: neutropenia autoinmune, síndrome de Guillain-Barré, epilepsia, encefalitis autoinmune, síndrome de Isaacs, síndrome de nevo, pénfigo vulgar, pénfigo deciduo, penfigoide ampolloso, epidermólisis ampollosa adquirida, penfigoide gestacional, penfigoide de membrana mucosa, síndrome antifosfolípido, anemia autoinmune, enfermedad de Graves autoinmune, síndrome de Goodpasture, miastenia gravis, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, lupus, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), nefritis lúpica y nefropatía membranosa.

[0021] En algunas realizaciones, la administración es parenteral. En algunas realizaciones, la administración es subcutánea o intravenosa. En algunas realizaciones, la administración es a una dosis de 300 mg a 2400 mg. En algunas realizaciones, la administración es una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas o una vez al mes. En algunas realizaciones,

la administración es subcutánea una vez a la semana a una dosis de 300 mg a 900 mg. En algunas realizaciones, la administración es subcutánea una vez cada dos semanas a una dosis de 300 mg a 1800 mg. En algunas realizaciones, la administración no da como resultado una disminución de más del 5 % o más del 10 % en los niveles de albúmina en sangre en el sujeto en comparación con los niveles de albúmina en sangre antes de la administración del anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a antígeno. En algunas realizaciones, la administración no da como resultado un aumento de más del 5 % o más del 10 % en los niveles de colesterol total en sangre o lipoproteína de baja densidad (LDL) en el sujeto en comparación con los niveles de colesterol total en sangre o LDL antes de la administración del anticuerpo anti-FcRn o el fragmento de unión a antígeno.

Efectos de la invención

[0022] El anticuerpo específico de FcRn según la presente invención tiene una estabilidad mejorada, como por ejemplo reduciendo la tasa de producción de agregados, al mismo tiempo que tiene una productividad y una actividad biológica excelentes en comparación con el anticuerpo original, HL161AN. El anticuerpo de la presente invención no solo tiene una alta afinidad por FcRn, sino que también tiene o se predice que tendrá una alta especificidad y una inmunogenicidad nula o baja, y se une a FcRn para reducir significativamente la cantidad de autoanticuerpos patógenos en la sangre. Por lo tanto, se puede utilizar para el tratamiento de una enfermedad autoinmune.

Breve descripción de los dibujos

[0023] La FIG. 1 es un diagrama de flujo de un diseño in silico de la variante HL161AN.

[0024] La FIG. 2 es un dibujo que muestra el sitio de modificación postraducciona (PTM) previsto de la cadena ligera HL161AN.

[0025] La FIG. 3 es un dibujo que muestra el sitio de modificación postraducciona (PTM) previsto de la cadena pesada HL161AN.

[0026] La FIG. 4 es un dibujo que muestra una cobertura de secuencia del 100 % confirmada mediante el tratamiento de una muestra estándar interna de HL161AN

obtenida de la línea celular productora de HL161AN (#8G7) con dos enzimas, mezcla de tripsina+Lys C y quimotripsina, respectivamente.

[0027] La FIG. 5 es un dibujo que muestra los resultados del diseño in silico de la variante HL161AN (arriba) y los resultados del análisis del parátipo de HL161AN para FcRn humano (abajo). Específicamente, muestra los resultados del diseño de la variante mediante la ingeniería de los tres sitios de aminoácidos (L:Asn25, H:Cys32, H:Gln82) que pueden afectar la estabilidad del anticuerpo HL161AN. Aquí, la elipse indica el sitio de sustitución del sitio PTM seleccionado. Además, el parátipo de HL161AN se indica en letras en negrita, y la región CDR según el sistema IgBlast Kabat se indica mediante subrayado. * indica el sitio de sustitución del aminoácido seleccionado.

[0028] La FIG. 6 es un dibujo que muestra los resultados de SDS-PAGE de las variantes de HL161AN.

[0029] La FIG. 7 es un dibujo que muestra los resultados de SPR de las variantes de HL161AN.

[0030] La FIG. 8 es un dibujo que muestra los resultados obtenidos al confirmar la unión de las variantes de HL161AN y hFcRn usando FACS.

[0031] La FIG. 9 es un dibujo que muestra los resultados obtenidos al confirmar el efecto de las variantes de HL161AN para bloquear hFcRn usando FACS.

[0032] La FIG. 10 es un dibujo que muestra el grado de aumento en agregados de la variante de HL161AN (1 mg/mL) en una prueba de estabilidad realizada en condiciones aceleradas a 40°C.

[0033] La FIG. 11 es un dibujo que muestra el grado de aumento de fragmentos de la variante HL161AN (1 mg/mL) en una prueba de estabilidad realizada en condiciones aceleradas a 40°C.

[0034] La FIG. 12 es un dibujo que muestra los resultados obtenidos al confirmar la unión de hFcRn y las ocho variantes de alta concentración de HL161AN seleccionadas después del primer cribado in vitro mediante FACS.

[0035] La FIG. 13 es un dibujo que muestra los resultados obtenidos al confirmar el efecto de las ocho variantes de alta concentración de HL161AN seleccionadas después del primer cribado in vitro para bloquear hFcRn mediante FACS.

[0036] La FIG. 14 es un dibujo que muestra los resultados de SDS-PAGE de las ocho muestras de la variante HL161AN de alta concentración.

[0037] La FIG. 15 es un dibujo que muestra los resultados de SEC-HPLC de las ocho muestras de variantes HL161AN de alta concentración.

[0038] La FIG. 16 es un gráfico que muestra los resultados obtenidos al comparar la producción de agregación entre muestras de la variante HL161AN.

[0039] La FIG. 17 es un dibujo que muestra los resultados del catabolismo de biotina-hIgG de las variantes HL161AN (20 mg/kg) en ratones Tg. Muestra los resultados obtenidos mediante la recolección de sangre a las 24, 48, 72, 96, 120 y 168 horas después de la administración del trazador y la medición de la concentración de biotina-hIgG mediante ELISA.

[0040] La FIG. 18 es un dibujo que muestra la reducción de IgG en monos después del tratamiento con HL161ANS (IMVT-1402).

[0041] Las FIG. 19A-19C son dibujos que muestran los niveles de albúmina, LDL y colesterol, respectivamente, en monos después del tratamiento con HL161ANS (IMVT-1402).

[0042] La FIG. 20 es un esquema que muestra el diseño del estudio clínico descrito en el Ejemplo 13. Abreviaturas: AUC = área bajo la curva de concentración-tiempo; Cmax = concentración máxima observada; IV = intravenoso; MAD = dosis ascendente múltiple; PK = farmacocinética; QW = una vez a la semana; SAD = dosis única ascendente; SC = subcutáneo.

Descripción detallada para llevar a cabo la invención

Variante de anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a antígeno del mismo

[0043] En un aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo con estabilidad mejorada, que comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 5, HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7.

[0044] Luego, el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 puede ser sustituido con otro aminoácido, o el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 puede ser sustituido con otro aminoácido. «El aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1» se refiere al aminoácido (Asparagina) en la posición 3 de SEQ ID NO: 1; y “el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5” se refiere al aminoácido (Cisteína) en la posición 2 de SEQ ID NO:5.

[0045] Como se utiliza en el presente documento, el término "FcRn" o "receptor Fc neonatal" es una proteína relacionada con el MHC de clase I que se expresa en células endoteliales vasculares y se une a IgG y albúmina. Un rasgo característico es que la unión entre IgG y FcRn es fuerte cuando el pH es débilmente ácido, y no hay fuerza de unión a pH neutro. Por lo tanto, la IgG que entra en las células por pinocitosis o endocitosis se une fuertemente a FcRn, un tipo de receptor Fc gamma (FcγR), en endosomas en condiciones de pH 6,0, y por lo tanto puede evitar la vía degradativa de los lisosomas. Al reciclarse de nuevo a la membrana celular, la IgG se disocia rápidamente de FcRn en el torrente sanguíneo a pH 7,4. Se sabe que mediante este mecanismo de reciclaje mediado por el receptor, FcRn bloquea eficazmente la degradación de IgG en los lisosomas, prolongando así la vida media de la IgG. Es decir, FcRn se une a un anticuerpo del isotipo IgG y actúa como receptor para recuperar el anticuerpo, desempeñando así un papel importante en el mantenimiento del nivel de anticuerpos en suero.

[0046] Por otra parte, se ha sugerido que las enfermedades autoinmunes causadas por autoanticuerpos pueden tratarse reduciendo la vida media sérica de IgG inhibiendo la unión de IgG a FcRn (Li et al., J. Clin. Invest., 115:3440, 2005).

[0047] Como se utiliza en el presente documento, el término "anticuerpo anti-FcRn" se utiliza indistintamente con "variante de anticuerpo anti-FcRn", y es un anticuerpo específico para FcRn. El anticuerpo incluye una forma de anticuerpo intacta, así como un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo.

[0048] En general, las moléculas de anticuerpo obtenidas de seres humanos se relacionan con cualquiera de las clases de inmunoglobulina (IgG, IgM, IgA, IgE e

IgD), que difieren entre sí por la naturaleza de la cadena pesada presente en la molécula. Ciertas clases también tienen subclases, como IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, y otras. Además, en seres humanos, la cadena ligera puede ser una cadena kappa o una cadena lambda. Por consiguiente, en una realización, el anticuerpo divulgado en el presente documento es un anticuerpo IgG humano. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo IgG1. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo IgG4. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn descrito en este documento es un anticuerpo sintético basado en estructuras proteicas, que tienen la capacidad de unirse a FcRn.

[0049] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn es un anticuerpo monoclonal. El término “anticuerpo monoclonal” (MAb o mAb) o “composición de anticuerpo monoclonal”, como se utiliza en el presente documento, se refiere a una población de moléculas de anticuerpo que contienen solo una especie molecular de molécula de anticuerpo que consiste en un producto génico de cadena ligera único y un producto génico de cadena pesada único.

[0050] Como se utiliza en el presente documento, el término “fragmento de unión a antígeno” se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo intacto que conservan la capacidad de unirse específicamente a un antígeno determinado, es decir, FcRn. Un fragmento del anticuerpo en la presente invención incluye anticuerpos monocatenarios, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos triespecíficos, anticuerpos multiespecíficos tales como diacuerpos, tricuerpos y tetracuerpos, fragmentos Fab, fragmentos F(ab')₂, Fd, scFv, anticuerpos de dominio, anticuerpos de doble especificidad, minicuerpos, scap (proteína activadora de escisión de proteína de unión reguladora de esteroide), anticuerpos recombinantes quelantes, tricuerpos, bicuerpos, intracuerpos, nanocuerpos, SMIP (inmunofármacos modulares pequeños), proteínas de fusión de inmunoglobulina de dominio de unión, anticuerpos camelizados, anticuerpos que contienen VHH, derivados de región constante de anticuerpo, pero no se limita a ellos.

[0051] Un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno proporcionado en el presente documento puede ser un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, un anticuerpo quimérico o un anticuerpo murino.

[0052] Será evidente para un experto en la materia que, siempre que se mantenga la función de unión a FcRn, cualquier tipo de fragmento del anticuerpo según la presente divulgación exhibirá las mismas propiedades que el anticuerpo según la presente divulgación.

[0053] Las secuencias CDR ejemplares de los anticuerpos anti-FcRn divulgados en el presente documento se exponen en la Tabla 1. Las CDR se definen según el sistema de Kabat.

[Tabla 1]

		CDR1	CDR2	CDR3
HL161 AN	VL	GGNNIGSTSV H (SEQ ID NO: 1)	DDSDRPS (SEQ ID NO: 2)	QVRDSSSDHVI (SEQ ID NO: 3)
	VH	SCVMT (SEQ ID NO: 5)	VISGSGGSTYYADSVK G (SEQ ID NO: 6)	TPWWLRSPFFDY (SEQ ID NO: 7)
HL161 ANS	VL	GGSNIGSTSVH (SEQ ID NO: 9)	DDSDRPS (SEQ ID NO: 2)	QVRDSSSDHVI (SEQ ID NO: 3)
	VH	SSVMT (SEQ ID NO: 11)	VISGSGGSTYYADSVK G (SEQ ID NO: 6)	TPWWLRSPFFDY (SEQ ID NO: 7)
HL161 ANQ	VL	GGQNIGSTSV H (SEQ ID NO: 13)	DDSDRPS (SEQ ID NO: 2)	QVRDSSSDHVI (SEQ ID NO: 3)
	VH	SSVMT (SEQ ID NO: 11)	VISGSGGSTYYADSVK G (SEQ ID NO: 6)	TPWWLRSPFFDY (SEQ ID NO: 7)

[0054] En una realización, el anticuerpo anti-FcRn o su fragmento de unión a antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 5, HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, en donde el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 puede sustituirse por otro aminoácido, o el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 puede sustituirse por otro aminoácido.

[0055] Como se utiliza en el presente documento, el término "cadena pesada (HC)" se refiere tanto a una cadena pesada de longitud completa que comprende un dominio de región variable VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una secuencia de región variable suficiente para conferir especificidad a un antígeno y tres dominios de región constante CH1, CH2 y CH3, y un fragmento de la misma. Además, como se utiliza en el presente documento, el término "cadena ligera (LC *por sus siglas en inglés*)" se refiere tanto a una cadena ligera de longitud completa que comprende un dominio de región variable VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una secuencia de región variable suficiente para conferir especificidad a un antígeno y un dominio de región constante CL, y un fragmento de la misma.

[0056] Tal y como se utiliza aquí, el término "variable" indica que una porción específica de una región variable es significativamente diferente en secuencia entre anticuerpos. La región V media la unión al antígeno y define la especificidad de un anticuerpo concreto para su antígeno particular. La variabilidad se concentra en tres segmentos denominados regiones hipervariables (HVR), es decir, CDR, tanto en la región variable de la cadena ligera como en la de la pesada. Las partes más conservadas de las regiones variables se denominan regiones marco (FR). Las regiones variables de las cadenas ligera y pesada tienen estructuras FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4 desde el extremo N al extremo C.

[0057] Como se utiliza en el presente documento, el término "CDR (región determinante de complementariedad)" se refiere a una secuencia de aminoácidos de una región hipervariable de cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina. La cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y la cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contienen cada una tres CDR. Las CDR proporcionan residuos de contacto clave para la unión de un anticuerpo a un antígeno o epítipo.

[0058] Como se utiliza en el presente documento, el término "sustitución con otro aminoácido" se refiere a una sustitución con otro residuo de aminoácido que tiene propiedades similares a la secuencia de aminoácidos original. No está particularmente limitado siempre que las propiedades del anticuerpo de acuerdo con la presente divulgación se mantengan incluso si se produce la sustitución de aminoácidos. El "aminoácido" introducido por la sustitución anterior puede ser cualquiera seleccionado del grupo que consiste en lisina (K), alanina (A), arginina (R), asparagina (N), ácido aspártico (D), cisteína (C), glutamina (Q), ácido glutámico (E), glicina (G), histidina (H), isoleucina (I), leucina (L), metionina (M), fenilalanina (F), prolina (P), serina (S), treonina (T), triptófano (W), tirosina (Y) y valina (V). Las sustituciones pueden describirse como, por ejemplo, "el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1", que se refiere a la N en la posición 3 de SEQ ID NO: 1.

[0059] En una realización, el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 puede sustituirse por Ser (S) o Gln (Q), pero no se limita a ello.

[0060] En una realización, el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 puede sustituirse por Ser (S) o Tyr (Y), pero no se limita a ello.

[0061] En una realización, la variante n.º 1 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7. En este sentido, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma. La variante n.º 1 puede denominarse HL161ANS, HL161ANS (IgG1null) o HL161ANS (IgG4).

[0062] En una realización, la variante n.º 12 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y LCDR3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7. A este respecto, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma. La variante n.º 12 puede denominarse HL161ANQ, HL161ANQ (IgG1null) o HL161ANQ (IgG4).

[0063] En una realización, la variante n.º 2 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 está sustituido con Ser (S), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 está sustituido con Tyr (Y), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7. A este respecto, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma. La variante n.º 2 puede denominarse HL161ANSY, HL161ANSY (IgG1null) o HL161ANSY (IgG4).

[0064] En una realización, la variante n.º 13 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 está sustituido con Gln (Q), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 está sustituido con Tyr (Y), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7. A este respecto, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma,

IgG4 o una variante de la misma. La variante n.º 13 puede denominarse HL161ANQY, HL161ANQY (IgG1null) o HL161ANQY (IgG4).

[0065] En una realización, la variante n.º 23 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 está sustituido con Ser (S), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 está sustituido con Tyr (Y), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7. En este sentido, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma. La variante n.º 23 puede denominarse HL161ANSY, HL161ANSY (IgG1null) o HL161ANSY (IgG4).

[0066] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una VL CDR1 que comprende la secuencia $GGx_1NIGSTSV$ (SEQ ID NO: 38), en la que x_1 es N, S o Q. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una VH CDR1 que comprende la secuencia sx_2VMT (SEQ ID NO: 39), en la que x_2 es C, S o Y. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una VH CDR1 que comprende la secuencia $SX2VMT$ (SEQ ID NO: 39), en la que $X2$ es C, S o Y.

[0067] En una realización, la región variable de cadena pesada del anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender un marco compuesto de FR1 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15, FR2 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, FR3 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y FR4 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18.

[0068] En FR3 en el marco en la región variable de cadena pesada, un aminoácido específico puede ser sustituido con otro aminoácido, pero no está limitado a ello. Específicamente, el aminoácido de Q16 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 puede sustituirse con otro aminoácido.

[0069] Como se ha descrito anteriormente, la anterior “sustitución con otro aminoácido” no está particularmente limitada siempre que las propiedades del anticuerpo según la presente divulgación se mantengan incluso si se produce la sustitución del aminoácido.

[0070] En una realización, el aminoácido de Q16 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 puede sustituirse con Glu (E), pero no se limita a ello.

[0071] En una realización, la variante No. 8 comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, en la que puede comprender FR3 de una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de Q16 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 se sustituye por Glu (E). A este respecto, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma. La variante nº 8 puede denominarse HL161ANSE, HL161ANSE (IgG1null) o HL161ANSE (IgG4).

[0072] En una realización, la variante n.º 19 comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, en donde puede comprender FR3 de una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de Q16 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 está sustituido con Glu (E). A este respecto, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma. La variante n.º 19 puede denominarse HL161ANQE, HL161ANQE (IgG1null) o HL161ANQE (IgG4).

[0073] En una realización, la variante No. 11 comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 se sustituye por Ser (S), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 se sustituye con Tyr (Y), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, donde puede comprender FR3 de una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de Q16 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 se sustituye con Glu (E). A este respecto, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma. La variante nº 11 puede denominarse HL161ANSYE, HL161ANSYE (IgG1null) o HL161ANSYE (IgG4).

[0074] En una realización, la variante No. 22 comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de N3 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 se sustituye con Gln (Q), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C2 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 se sustituye por Tyr (Y), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, en la que puede comprender FR3 de una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de Q16 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 se sustituye por Glu (E). A este respecto, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma. La variante nº 22 puede denotarse como HL161ANQYE, HL161ANQYE (IgG1null) o HL161ANQYE (IgG4).

[0075] En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región

variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8.

[0076] A este respecto, en el anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a antígeno del mismo, el aminoácido de N25 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 puede sustituirse por otro aminoácido, y el aminoácido de C32 o Q82 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 puede sustituirse por otro aminoácido.

[0077] El “anticuerpo anti-FcRn”, el “fragmento de unión a antígeno” y la “sustitución con otro aminoácido” son como se ha descrito anteriormente.

[0078] En una realización, el aminoácido de N25 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 puede ser sustituido con Ser (S) o Gln (Q), pero no está limitado a ello.

[0079] En una realización, el aminoácido de C32 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 puede ser sustituido con Ser (S) o Tyr (Y), pero no se limita a ello.

[0080] En una realización, el aminoácido de Q82 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 puede ser sustituido con Glu (E), pero no se limita a ello.

[0081] En una realización, la variante N° 1 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12. A este respecto, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma.

[0082] En una realización, la variante n.º 12 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12. En este sentido, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma.

[0083] En una realización, la variante n.º 2 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C32 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 está sustituido con Tyr (Y). En este sentido, la región Fc del

anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma.

[0084] En una realización, la variante n.º 13 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C32 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 está sustituido con Tyr (Y). En este sentido, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma.

[0085] En una realización, la variante n.º 8 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C32 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 está sustituido con Ser (S) y el aminoácido de Q82 está sustituido con Glu (E). En este sentido, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma.

[0086] En una realización, la variante n.º 19 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C32 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 está sustituido con Ser (S) y el aminoácido de Q82 está sustituido con Glu (E). A este respecto, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma.

[0087] En una realización, la variante n.º 11 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C32 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 está sustituido con Tyr (Y) y el aminoácido de Q82 está sustituido con Glu (E). En este sentido, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma.

[0088] En una realización, la variante n.º 22 puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 14 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos en la que el aminoácido de C32 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 está sustituido con Tyr (Y) y el aminoácido de Q82 está sustituido con Glu (E). En este sentido, la región Fc del anticuerpo puede ser IgG1 o una variante de la misma, IgG4 o una variante de la misma.

[0089] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia que es al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 4. En algunas de estas realizaciones, la secuencia de las CDR de la región variable de cadena ligera es 100% idéntica a SEQ ID NO:4. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia que es al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 10. En algunas de estas realizaciones, la secuencia de las CDR de la región variable de cadena ligera es 100% idéntica a SEQ ID NO: 10. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia que es al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 14. En algunas de estas realizaciones, la secuencia de las CDR de la región variable de cadena ligera es 100% idéntica a SEQ ID NO: 14.

[0090] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia que es al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 8. En algunas de estas realizaciones, la secuencia de las CDR de la región variable de cadena pesada es 100% idéntica a SEQ ID NO:8. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia

que es al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 12. En algunas de estas realizaciones, la secuencia de las CDR de la región variable de cadena pesada es 100% idéntica a SEQ ID NO: 12.

[0091] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn comprende cualquiera de las CDR, regiones variables de cadena ligera y/o regiones variables de cadena pesada descritas en este documento y comprende además una región Fc de IgG1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn comprende cualquiera de las CDR, regiones variables de cadena ligera y/o regiones variables de cadena pesada descritas en este documento y comprende además una región Fc de IgG1 que comprende sustituciones de aminoácidos Leu234Ala/Leu235Ala ("LALA") ("IgG1-LALA").

[0092] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn comprende cualquiera de las CDR, regiones variables de cadena ligera y/o regiones variables de cadena pesada descritas en este documento y comprende además una región Fc de IgG4. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn comprende cualquiera de las CDR, regiones variables de cadena ligera y/o regiones variables de cadena pesada descritas en este documento y comprende además una región Fc de IgG4 que comprende la sustitución del aminoácido S228P ("IgG4 S228P").

[0093] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn es un anticuerpo IgG1 y comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn es un anticuerpo IgG4 y comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una

LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende un HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, un HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y un HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7.

[0094] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn es un anticuerpo IgG1-LALA y comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende un HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, un HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y un HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn es un anticuerpo IgG4 S228P y comprende una región variable de cadena ligera que comprende LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, un LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y un LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende un HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, un HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y un HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7.

[0095] En una realización, el HL161ANS (IgG1null) puede comprender una región de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22.

[0096] En una realización, el HL161ANS (IgG4) puede comprender una región de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23.

[0097] En una realización, el HL161ANQ (IgG1null) puede comprender una región de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 24 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22.

[0098] En una realización, el HL161ANQ (IgG4) puede comprender una región de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23.

[0099] En una realización, el HL161ANSY (IgG1null) puede comprender una región de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25.

[00100] En una realización, el HL161ANSE (IgG1null) puede comprender una región de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26.

[00101] En una realización, el HL161ANSYE (IgG1null) puede comprender una región de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27.

[00102] En una realización, el HL161ANQY (IgG1null) puede comprender una región de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25.

[00103] En una realización, el HL161ANQE (IgG1null) puede comprender una región de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26.

[00104] En una realización, el HL161ANQYE (IgG1null) puede comprender una región de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27. secuencia de ácidos de SEQ ID NO: 24 y una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27.

[00105] En una realización, el anticuerpo anti-FcRn es una variante de anticuerpo anti-FcRn preparada mediante la sustitución de un residuo de aminoácido en un sitio específico del anticuerpo progenitor HL161AN, y se confirmó que tiene la tasa de producción reducida de agregados mientras mantiene alta afinidad y especificidad para FcRn como el anticuerpo progenitor. En una realización, el anticuerpo anti-FcRn es una variante de anticuerpo anti-FcRn preparada mediante la sustitución de un residuo de aminoácido en un sitio específico del anticuerpo progenitor HL161AN, y se confirmó que tiene la tasa de producción reducida de agregados mientras mantiene una alta afinidad por FcRn como el anticuerpo progenitor. Específicamente, se confirmó que la variante del anticuerpo anti-FcRn según la presente divulgación tiene una estabilidad mejorada, como la reducción de la tasa de producción de agregados hasta dos veces o más, al tiempo que tiene excelentes actividades biológicas, como el anticuerpo original desarrollado previamente HL161AN (Patente coreana nº 10-1954906), como la productividad, una acción como inhibidor de la unión de IgG y FcRn, y un efecto de catabolismo de IgG, es decir, la promoción de la eliminación de IgG.

[00106] Por lo tanto, la variante de anticuerpo anti-FcRn según la presente divulgación, que ha mejorado significativamente la estabilidad al mismo tiempo que tiene excelentes actividades biológicas como el anticuerpo parental HL161AN desarrollado previamente, puede usarse de manera útil para el tratamiento de una enfermedad autoinmune.

[00107] En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-FcRn descrito en este documento a un sujeto disminuye los niveles de inmunoglobulina en sangre (por ejemplo, niveles de IgG) en el sujeto en al menos o más del 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 65 % u 80 % en comparación con los niveles de inmunoglobulina en sangre (por ejemplo, niveles de IgG) en el sujeto antes de la administración del anticuerpo anti-FcRn.

[00108] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento da como resultado niveles de inmunoglobulina más bajos (por ejemplo, niveles de IgG) en la sangre de un sujeto que otro anticuerpo anti-FcRn cuando se administra a un sujeto. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento da como resultado niveles de inmunoglobulina más bajos

(por ejemplo, niveles de IgG) en la sangre de un sujeto que batoclimab. En algunas realizaciones, la administración del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento a un sujeto disminuye los niveles de inmunoglobulina (por ejemplo, niveles de IgG) en la sangre del sujeto a aproximadamente el mismo nivel que la administración de una dosis comparable de batoclimab. Batoclimab es conocido en la técnica y también se describe, por ejemplo, en la publicación de solicitud de patente internacional n.º WO2015/167293, que se incorpora como referencia en el presente documento en su totalidad; En el documento WO2015/167293 se hace referencia a batoclimab como “HL161BKN”.

[00109] En algunas realizaciones, la administración a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento disminuye los niveles de albúmina en sangre en menos del 5%, menos del 10%, menos del 20% o menos del 30% en comparación con los niveles de albúmina en sangre previos a la administración. En algunas realizaciones, la administración a un sujeto (por ejemplo, un humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento aumenta los niveles de colesterol en sangre en menos del 5%, menos del 10%, menos del 20% o menos del 30% en comparación con los niveles de colesterol en sangre antes de la administración.

[00110] En algunas realizaciones, la administración a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento aumenta los niveles de colesterol total en sangre en menos del 5%, menos del 10%, menos del 20% o menos del 30% en comparación con los niveles de colesterol total en sangre antes de la administración.

[00111] En algunas realizaciones, la administración a un sujeto (por ejemplo, un humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento aumenta los niveles de LDL en sangre en menos del 5%, menos del 10%, menos del 20% o menos del 30% en comparación con los niveles de LDL en sangre antes de la administración.

[00112] En algunas realizaciones, la administración a un sujeto (p. ej., un humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento disminuye los niveles de inmunoglobulina en sangre en al menos aproximadamente

un 40%, 50%, 65% u 80%, pero (i) no tiene efecto o tiene un efecto mínimo sobre los niveles de albúmina en sangre (p. ej., disminuye la albúmina en sangre en menos del 20%, 10%, menos del 5%, menos del 2% o menos del 1%) y/o (ii) no tiene ningún efecto o tiene un efecto mínimo sobre los niveles de colesterol total en sangre y/o los niveles de LDL (p. ej., aumenta el colesterol en menos del 20%, 10%, menos del 5%, menos del 2% o menos del 1%) en comparación con los niveles previos a la administración.

[00113] En algunas realizaciones, la administración a un sujeto (p. ej., un ser humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento disminuye los niveles de inmunoglobulina en sangre en al menos un 40%, 50%, 65% u 80%, pero no tiene efecto o tiene un efecto mínimo en los niveles de albúmina en sangre (p. ej., disminuye la albúmina en sangre en menos de un 10%, menos de un 5%, menos de un 2% o menos de un 1%), disminuye la albúmina en sangre en menos de un 10%, menos de un 5%, menos de un 2% o menos de un 1%) y no tiene ningún efecto o tiene un efecto mínimo sobre el colesterol en sangre (p. ej., aumenta el colesterol en menos de un 10%, menos de un 5%, menos de un 2% o menos de un 1%) en comparación con los niveles previos a la administración.

[00114] En algunas realizaciones, la administración subcutánea a un sujeto humano (p. ej., administración subcutánea crónica a un humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento disminuye los niveles de inmunoglobulina en sangre en al menos aproximadamente un 40%, 50%, 65% u 80%, pero no tiene efecto o tiene un efecto mínimo sobre los niveles de albúmina en sangre (p. ej., disminuye la albúmina en sangre en menos de un 10%, menos de un 5%, menos de un 2% o menos de un 1%) y no tiene ningún efecto o tiene un efecto mínimo sobre el colesterol en sangre (por ejemplo, aumenta el colesterol en menos de un 10%, menos de un 5%, menos de un 2% o menos de un 1%) en comparación con los niveles previos a la administración.

[00115] En algunas realizaciones, la administración a un sujeto (p. ej., un ser humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento disminuye los niveles de inmunoglobulina en sangre en al menos aproximadamente un 40%, 50%, 65% u 80%, pero no tiene ningún efecto o tiene un efecto mínimo sobre los niveles de albúmina en sangre (p. ej., disminuye la albúmina

en sangre en menos del 10%, menos del 5%, menos del 2% o menos del 1%) y no tiene efecto o tiene un efecto mínimo en los niveles de LDL en sangre (p. ej., aumenta las LDL en menos del 10%, menos del 5%, menos del 2% o menos del 1%) en comparación con los niveles previos a la administración.

[00116] En algunas realizaciones, la administración subcutánea a un sujeto humano (p. ej., administración subcutánea crónica a un humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento disminuye los niveles de inmunoglobulina en sangre en al menos aproximadamente un 40%, 50%, 65% u 80%, pero no tiene efecto o tiene un efecto mínimo sobre los niveles de albúmina en sangre (p. ej., disminuye la albúmina en sangre en menos de un 10%, menos de un 5%, menos de un 2% o menos de un 1%) y no tiene ningún efecto o tiene un efecto mínimo sobre los niveles de LDL en sangre (p. ej., aumenta las LDL en menos de un 10%, menos de un 5%, menos de un 2% o menos de un 1%) en comparación con los niveles previos a la administración.

[00117] En algunas realizaciones, la administración subcutánea crónica a un ser humano durante 12 semanas o más de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento disminuye los niveles de inmunoglobulina en sangre en al menos aproximadamente un 40%, 50%, 65% u 80%, pero no tiene efecto o tiene un efecto mínimo en los niveles de albúmina en sangre (p. ej., disminuye la albúmina en sangre en menos de un 10%, menos de un 5%, menos de un 2% o menos de un 1%) y no tiene ningún efecto o un efecto mínimo en los niveles de LDL y/o colesterol en sangre (p. ej., aumenta las LDL y/o el colesterol en menos de un 10%, menos de un 5%, menos de un 2% o menos de un 1%) en comparación con los niveles previos a la administración.

[00118] Las variantes funcionales del anticuerpo o de los fragmentos de unión al antígeno descritos en el presente documento también están abarcadas por la presente divulgación. El término "variante funcional" como se utiliza en el presente documento incluye modificaciones o equivalentes químicos de las secuencias de aminoácidos y ácidos nucleicos descritas en el presente documento que realizan sustancialmente la misma función que los polipéptidos o las moléculas de ácidos nucleicos descritas en el presente documento de forma sustancialmente similar. Por ejemplo, las variantes funcionales de los polipéptidos descritas en el presente

documento incluyen, sin limitación, sustituciones de aminoácidos conservadoras. Una "sustitución de aminoácidos conservadora" como se utiliza en el presente documento es una en la que un residuo de aminoácido se reemplaza por otro residuo de aminoácido, son sustituciones que cambian un aminoácido por un aminoácido diferente con propiedades bioquímicas similares (por ejemplo, carga, hidrofobicidad y tamaño). Por ejemplo, la lisina, la arginina y la histidina tienen propiedades similares en el sentido de que tienen una cadena lateral básica, y el ácido aspártico y el ácido glutámico tienen propiedades similares en el sentido de que tienen una cadena lateral ácida. Además, la glicina, la asparagina, la glutamina, la serina, la treonina, la tirosina, la cisteína y el triptófano tienen propiedades similares en el sentido de que tienen una cadena lateral polar no cargada, y la alanina, la valina, la leucina, la isoleucina, la prolina, la fenilalanina y la metionina tienen propiedades similares en el sentido de que tienen una cadena lateral no polar. Además, la tirosina, la fenilalanina, el triptófano y la histidina tienen propiedades similares en el sentido de que tienen una cadena lateral aromática. Por lo tanto, será obvio para los expertos en la materia que, incluso cuando se produce la sustitución de residuos de aminoácidos en grupos que muestran propiedades similares a las descritas anteriormente, no se mostrará ningún cambio particular en las propiedades. Las variantes de polipéptidos también incluyen adiciones y delecciones a las secuencias de polipéptidos descritas en el presente documento. Además, las secuencias de nucleótidos variantes incluyen análogos y derivados de las mismas. Una variante de las proteínas de unión descritas en el presente documento incluye proteínas que se unen al mismo antígeno o epítipo que las proteínas de unión.

[00119] Como será evidente para una persona experta en la técnica, la lisina C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina puede escindirse durante la producción. Por lo tanto, en algunas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento comprende dos residuos de lisina C-terminal (es decir, una lisina C-terminal en cada cadena pesada). En algunas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento comprende un residuo de lisina C-terminal (es decir, una lisina C-terminal en una cadena pesada y ninguna lisina C-terminal en la otra cadena pesada). En algunas realizaciones, un anticuerpo descrito en el

presente documento no comprende residuos de lisina C-terminal en ninguna de las cadenas pesadas.

[00120] Puede ser deseable modificar un anticuerpo descrito en el presente documento con respecto a la función efectora, de modo de mejorar, por ejemplo, la eficacia del anticuerpo en el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados. Por ejemplo, se pueden introducir residuos de cisteína en la región Fc, permitiendo de ese modo la formación de enlaces disulfuro entre cadenas en esta región. El anticuerpo homodimérico así generado puede tener una capacidad de internalización mejorada y/o una mayor destrucción celular mediada por complemento y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). (Ver Caron et al., *J Exp Med.*, 176:1191-1195 (1992) y Shopes, J. *Immunol.*, 148:2918-2922 (1992)). Alternativamente, se puede diseñar un anticuerpo que tenga regiones Fc duales y pueda de ese modo tener capacidades mejoradas de lisis del complemento y ADCC. (Véase Stevenson et al., *Anti-Cancer Drug Design*, 3:219-230 (1989)). Las mutaciones que afectan a la función efectora de los anticuerpos son conocidas en la técnica, ver, por ejemplo, Saunders et al., 2019; *Front. Immunol.* 10:1296 y Wang et al., 2018, *Célula proteica* 9(1): 63-73, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad para ejemplos de modificaciones de Fc que pueden introducirse en los anticuerpos descritos en este documento. A menos que se indique lo contrario, las mutaciones de Fc en esta sección se describen con referencia al esquema de numeración de Kabat para inmunoglobulinas. Las mutaciones ilustrativas y combinaciones de mutaciones que pueden introducirse en el Fc de un anticuerpo anti-FcRn proporcionado en este documento incluyen, sin limitación,, Lys326Trp/Glu333Ser, Ser267Glu/His268Phe/Ser324Thr, Lys326Trp/Glu333Ser, Lys326Ala/Glu333Ala, Lys326Met/Glu333Ser, Cys221Asp/Asp222Cys, Ser267Glu, His268Phe, Ser324Thr, Glu345Arg, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, Arg435His, Met252Tyr/Ser254Thr/Thr256Glu (“YTE”), Met428Leu/Asn434Ser, Thr252Leu/Thr253Ser/Thr254Phe, Leu235Glu, Leu234Ala/Leu235Ala (“LALA”), Ser228Pro/Leu235Glu, Leu234Ala/Leu235Ala/Pro329Gly, Pro331Ser/Leu234Glu/Leu235Phe, Asp265Ala, y Ala330Leu.

[00121] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn es un anticuerpo IgG1 que comprende mutaciones Leu234Ala/Leu235Ala ("LALA") (es decir, es un anticuerpo "IgG1-LALA"). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn es un anticuerpo IgG4 que comprende la mutación S228P (es decir, es un anticuerpo "IgG4 S228P").

Polinucleótido que codifica la variante del anticuerpo anti-FcRn

[00122] En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un polinucleótido que codifica el anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

[00123] Específicamente, un polinucleótido que codifica la cadena pesada puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 31, 33, 35 o 37. Además, un polinucleótido que codifica la cadena pesada puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 31, 33, 35 o 37. Además, un polinucleótido que codifica la cadena ligera puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 30, 32, 34 o 36.

[00124] El polinucleótido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que tenga al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o al menos aproximadamente 100% de identidad con SEQ ID NO: 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 o 37.

[00125] En algunas realizaciones, el polinucleótido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 30. En algunas realizaciones, el polinucleótido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 31. En algunas realizaciones, el polinucleótido comprende las secuencias de SEQ ID NO: 30 y SEQ ID NO: 31. En algunas realizaciones, el polinucleótido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 32. En algunas realizaciones, el polinucleótido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33. En algunas

realizaciones, el polinucleótido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33. En algunas realizaciones, el polinucleótido comprende las secuencias de SEQ ID NO: 32 y SEQ ID NO: 33.

[00126] El polinucleótido puede mutarse por sustitución, delección, inserción de una o más bases, o una combinación de las mismas. Cuando la secuencia de nucleótidos se prepara mediante síntesis química, pueden utilizarse métodos de síntesis bien conocidos en la técnica, por ejemplo, el método descrito en la bibliografía (Engels y Uhlmann, *Angew Chem IntEd Engl.*, 37:73-127, 1988), y pueden incluir métodos de triéster, fosfito, fosforamidita y H-fosfato, PCR y otros métodos de autocebador, métodos de síntesis de oligonucleótidos sobre un soporte sólido, y similares.

Vector cargado con polinucleótido que codifica una variante de anticuerpo anti-FcRn

[00127] En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un vector de expresión recombinante que comprende el polinucleótido.

[00128] Además, el polinucleótido puede tener una cadena pesada y una cadena ligera cargadas en un vector, o cargadas en dos vectores, respectivamente.

[00129] Específicamente, cuando se carga en un vector, el polinucleótido puede comprender el polinucleótido de SEQ ID NO: 30 y el polinucleótido de SEQ ID NO: 31; el polinucleótido de SEQ ID NO: 32 y el polinucleótido de SEQ ID NO: 33; el polinucleótido de SEQ ID NO: 34 y el polinucleótido de SEQ ID NO: 35; o el polinucleótido de SEQ ID NO: 36 y el polinucleótido de SEQ ID NO: 37.

[00130] Un vector proporcionado en el presente documento puede comprender un polinucleótido que codifica la cadena ligera de un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión al antígeno del mismo y/o la cadena pesada de un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión al antígeno del mismo.

[00131] En algunas realizaciones, el vector comprende un polinucleótido que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 30. En algunas realizaciones, el vector comprende un polinucleótido que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 31. En algunas realizaciones, el vector comprende un polinucleótido que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 30 (que codifica la cadena ligera) y la secuencia de SEQ ID NO: 31 (que codifica la cadena pesada).

[00132] En algunas realizaciones, el vector comprende un polinucleótido que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 32. En algunas realizaciones, el vector comprende un polinucleótido que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33. En algunas realizaciones, el vector comprende un polinucleótido que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 32 (que codifica la cadena ligera) y la secuencia de SEQ ID NO: 33 (que codifica la cadena pesada).

[00133] El vector puede introducirse en una célula huésped y recombinarse e insertarse en un genoma de la célula huésped. Alternativamente, se entiende que el vector es un medio de ácido nucleico que comprende una secuencia de polinucleótido capaz de replicarse espontáneamente como un episoma. El vector incluye ácidos nucleicos lineales, plásmidos, fagémidos, cósmidos, vectores de ARN, vectores virales y análogos de los mismos. Los ejemplos de vectores virales incluyen retrovirus, adenovirus y virus adenoasociados, pero no se limitan a ellos.

[00134] Específicamente, el vector puede ser ADN plasmídico, ADN fágico y similares. Además, pueden ser plásmidos desarrollados comercialmente (pUC18, pBAD, pIDTSAMRT-AMP, etc.), plásmidos derivados de *E. coli* (pYG601BR322, pBR325, pUC118, pUC119, etc.), plásmidos derivados de *Bacillus subtilis* (pUB110, pTP5, etc.), plásmidos derivados de levadura (YEp13, YEp24, YCp50, etc.), ADN fágico (Charon4A, Charon21A, EMBL3, EMBL4, λ gt10, λ gt11, λ ZAP, etc.), vectores virales animales (retrovirus, adenovirus, virus vaccinia, etc.), vectores virales de insectos (baculovirus, etc.). Dado que el vector muestra diferentes niveles de expresión de proteínas y modificaciones dependiendo de la célula huésped, es preferible seleccionar y utilizar la célula huésped más adecuada para el propósito.

[00135] El vector de la presente divulgación puede fusionarse con otras secuencias para facilitar la purificación del anticuerpo expresado a partir del mismo. La secuencia que se va a fusionar incluye, por ejemplo, glutatión S-transferasa (Pharmacia, EE. UU.), proteína de unión a maltosa (NEB, EE. UU.), FLAG (IBI, EE. UU.), 6× His (hexahistidina; Quiagen, EE. UU.) y similares.

[00136] Además, dado que la proteína expresada por el vector de la presente divulgación es un anticuerpo, el anticuerpo expresado puede purificarse fácilmente a través de una columna de proteína A o similar sin una secuencia adicional para la purificación.

Célula transformada que expresa una variante de anticuerpo anti-FcRn

[00137] En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona una célula huésped transformada con el vector de expresión recombinante.

[00138] Una célula huésped de la célula transformada puede incluir una célula procariota, una célula eucariota, una célula de origen mamífero, vegetal, de insecto, fúngico o celular, pero no se limita a ellas. Se puede utilizar *E. coli* como ejemplo de célula procariota. Además, se puede utilizar levadura como ejemplo de célula eucariota. Además, como célula de mamífero, se pueden utilizar células CHO, células F2N, células CSO, células BHK, células de melanoma de Bowes, células HeLa, células 911, células AT1080, células A549, células HEK 293, células HEK293T o similares, pero no se limita a ellas, y está disponible cualquier célula que se pueda utilizar como célula huésped de mamífero conocida por un experto en la materia.

[00139] En la presente divulgación, "transformación" o "transfección" en una célula huésped incluye cualquier método de introducción de un ácido nucleico en un organismo, célula, tejido u órgano, y como se sabe en la técnica, se pueden seleccionar y realizar técnicas estándar adecuadas dependiendo de la célula huésped. Por ejemplo, se pueden utilizar el método de precipitación con CaCl_2 , el método de Hanahan con mayor eficiencia mediante el uso de DMSO (dimetilsulfóxido) como agente reductor en el método de precipitación con CaCl_2 , la electroporación, el método de precipitación con fosfato de calcio, el método de fusión de protoplastos, el método de agitación mediante fibra de carburo de silicio, el método de transformación mediado por *agrobacterium*, el método de transformación mediante PEG, sulfato de dextrano, lipofectamina y el método de transformación mediado por secado/inhibición, y similares.

Método para producir una variante de anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo

[00140] En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un método para producir un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende cultivar la célula huésped para producir un anticuerpo; y aislar y purificar el anticuerpo producido para recuperar un anticuerpo que se une específicamente a FcRn.

[00141] El anticuerpo específico de FcRn según la presente divulgación se puede producir en una gran cantidad cultivando el transformante que expresa el vector recombinante en un medio nutritivo, y el medio y las condiciones de cultivo que se toleran dependiendo de la célula huésped se pueden seleccionar y utilizar de forma apropiada. En el cultivo, las condiciones tales como la temperatura, el pH del medio y la duración del cultivo se pueden regular de forma apropiada para que sean adecuadas para el crecimiento celular y la producción en masa de proteínas. El anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se produce de forma recombinante como se describió anteriormente se puede recuperar del medio o lisado celular, y se puede aislar y purificar mediante técnicas de separación bioquímica convencionales (Sambrook et al., *Molecular Cloning: A laboratory Manual*, 2.^a edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); Deuschler, M., *Guía de métodos de purificación de proteínas Enzimología*, vol. 182. Prensa académica. Inc., San Diego, CA (1990)). Como ejemplo, se pueden utilizar electroforesis, centrifugación, filtración en gel, precipitación, diálisis, cromatografía (cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad, cromatografía inmunoabsorbente, cromatografía de exclusión por tamaño, etc.), isoelectroenfoque y métodos con diversas modificaciones y combinaciones de los mismos, y similares, pero no se limitan a ellos. En particular, es preferible el aislamiento y la purificación utilizando proteína A.

[00142] En particular, el anticuerpo anti-FcRn o su fragmento de unión a antígeno se prepara preferiblemente mediante expresión y purificación utilizando un método de recombinación genética. Específicamente, es preferible preparar la región variable que codifica el anticuerpo que se une específicamente a FcRn de acuerdo con la presente divulgación mediante expresión simultánea en una célula huésped.

Uso de una variante de anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo

[00143] En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona una composición farmacéutica para tratar una enfermedad autoinmune, que comprende el anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo. También se proporciona en el presente documento un método para tratar un trastorno autoinmune que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad

eficaz de un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica descrita en el presente documento.

[00144] El "anticuerpo anti-FcRn" y el "fragmento de unión al antígeno" son como se describieron anteriormente.

[00145] Como se utiliza en el presente documento, el término "enfermedad autoinmune" es un término genérico para enfermedades que se producen cuando el sistema inmunitario ataca a sus tejidos, órganos u otros componentes corporales normales debido a una anomalía del sistema inmunitario de causa desconocida. Es una enfermedad sistémica que puede producirse en casi cualquier parte del cuerpo, incluido el sistema nervioso, el sistema gastrointestinal, el sistema endocrino, la piel, el sistema esquelético, el tejido vascular y similares.

[00146] La composición farmacéutica se puede aplicar a todas las enfermedades autoinmunes mediadas por IgG y FcRn. Las enfermedades autoinmunes representativas pueden ser una seleccionada del grupo que consiste en neutropenia autoinmune, síndrome de Guillain-Barré, epilepsia, encefalitis autoinmune, síndrome de Isaacs, síndrome del nevo, pénfigo vulgar, pénfigo deciduo, penfigoide ampolloso, epidermólisis ampollosa adquirida, penfigoide gestacional, penfigoide de las membranas mucosas, síndrome antifosfolípido, anemia autoinmune, enfermedad de Graves autoinmune, síndrome de Goodpasture, miastenia gravis, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, lupus, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), nefritis lúpica, nefropatía membranosa, rechazo de injerto de islotes alogénicos, alopecia areata, espondilitis anquilosante, enfermedad de Addison autoinmune, enfermedad de Alzheimer, autoanticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA), trastornos autoinmunes de las glándulas suprarrenales, glándula, anemia hemolítica autoinmune caliente (WAIHA), hepatitis autoinmune, miocarditis autoinmune, ooforitis y orquitis autoinmunes, trombocitopenia autoinmune, urticaria autoinmune, enfermedad de Behcet, miocardiopatía, síndrome de Castleman, dermatitis celíaca, síndrome de disfunción inmunitaria por fatiga crónica, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), síndrome de Churg-Strauss, penfigoide cicatricial, síndrome CREST, enfermedad por crioaglutininas, enfermedad de Crohn, dermatomiositis, miocardiopatía dilatada, lupus discoide, crioglobulinemia mixta esencial, deficiencia del factor VIII, fibromialgia-fibromiositis, glomerulonefritis,

enfermedad ocular tiroidea (TED, también conocida como oftalmopatía de Graves); enfermedad de injerto contra huésped (EICH), tiroiditis de Hashimoto, hemofilia A, neuropatía membranosa idiopática, fibrosis pulmonar idiopática, neuropatía por IgA, polineuropatías por IgM, trombocitopenia inmunomediada, artritis juvenil, enfermedad de Kawasaki, liquen plantar, liquen escleroso, lupus eritematoso, enfermedad de Ménière, enfermedad mixta del tejido conectivo, diabetes mellitus tipo 1, neuropatía motora multifocal (NMM), pénfigoide ampolloso paraneoplásico, pénfigo foliáceo, anemia perniciosa, poliarteritis nodosa, policondritis, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, polimiositis y dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirrosis biliar primaria, psoriasis, artritis psoriásica, policondritis recidivante, fenómeno de Reynauld, síndrome de Reiter síndrome, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjögren, rechazo de trasplante de órgano sólido, síndrome del hombre rígido, lupus eritematoso sistémico, arteritis de Takayasu, necrólisis epidérmica tóxica (NET), síndrome de Stevens Johnson (SJS), arteritis temporal, arteritis de células gigantes, púrpura trombocitopénica trombótica, colitis ulcerosa, uveítis, vasculitis por dermatitis herpetiforme, vasculitis asociadas a anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos, vitíligo, y granulomatosis de Wegner. En algunas realizaciones, el trastorno autoinmune es una canalopatía autoinmune, opcionalmente en donde la canalopatía se selecciona del grupo que consiste en encefalitis límbica autoinmune, neuromielitis óptica, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, miastenia gravis, encefalitis por receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA), encefalitis por receptor de ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA), síndrome de Morvan, neuromiotonía, trastornos neuropsiquiátricos autoinmunes pediátricos asociados con infección estreptocócica (PANDAS), trastorno asociado con anticuerpos del receptor de glicina, miositis, trastornos de anticuerpos de glucoproteína de oligodendrocitos de mielina (trastorno de anticuerpos MOG), enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido, lupus eritematoso cutáneo, artritis reumatoide refractaria, trombocitopenia inmunitaria, enfermedad anti-GBM, enfermedad membranosa primaria, Nefropatía, miopatía autoinmune necrosante, síndrome antisintetasa, vasculitis ANCA, hidradenitis supurativa, proteinosis alveolar pulmonar (PAP) y lupus eritematoso sistémico (LES), pero no se limitan a estos.

[00147] En algunas realizaciones, la enfermedad tratada de acuerdo con un método descrito en el presente documento es una enfermedad que se caracteriza por o exhibe niveles elevados de IgG total en sangre en un sujeto que se va a tratar. En algunas realizaciones, la enfermedad tratada de acuerdo con un método descrito en el presente documento es cualquiera de las enfermedades autoinmunes a las que se hace referencia en el presente documento. En algunas realizaciones, la enfermedad es una enfermedad de Graves autoinmune. En algunas realizaciones, la enfermedad es enfermedad ocular tiroidea (TED, también conocida como oftalmopatía de Graves). En algunas realizaciones, la enfermedad es anemia hemolítica autoinmune caliente (WAIHA). En algunas realizaciones, la enfermedad es miastenia grave. En algunas realizaciones, la enfermedad es polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP). En algunas realizaciones, la enfermedad es pénfigo vulgar, pénfigo foliáceo, pénfigo deciduo, pénfigo ampolloso, pénfigo gestacional o pénfigo de membrana mucosa.

[00148] En algunas realizaciones, la enfermedad tratada de acuerdo con un método descrito en el presente documento es una enfermedad que responde a la terapia de intercambio de plasma. El sujeto tratado de acuerdo con un método descrito en el presente documento puede haberse sometido previamente a un intercambio de plasma. En algunas realizaciones, la enfermedad tratada de acuerdo con un método descrito en el presente documento es una enfermedad que responde a una terapia que disminuye los niveles totales de IgG. El sujeto tratado de acuerdo con un método descrito en el presente documento puede haberse sometido previamente a una terapia que disminuye los niveles totales de IgG. En algunas realizaciones, la enfermedad tratada de acuerdo con un método descrito en el presente documento es una enfermedad que responde a rituximab. El sujeto tratado de acuerdo con un método descrito en el presente documento puede haberse sometido previamente a un tratamiento con rituximab.

[00149] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn o fragmento específico de antígeno del mismo descrito en el presente documento disminuye el nivel de una inmunoglobulina específica de antígeno o un autoanticuerpo, tal como cualquiera de los autoanticuerpos descritos en el presente documento o conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FcRn o fragmento específico de

antígeno del mismo descrito en el presente documento disminuye el nivel de un autoanticuerpo específico de una enfermedad autoinmune o un autoanticuerpo asociado, o que se sabe que está asociado, con una enfermedad autoinmune, tal como cualquiera de los autoanticuerpos descritos en el presente documento o conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, la enfermedad autoinmune es cualquiera de las enfermedades autoinmunes divulgadas en el presente documento.

[00150] En algunas realizaciones, la administración (por ejemplo, subcutánea) a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en el presente documento disminuye los niveles de inmunoglobulina específica de antígeno o un nivel de autoanticuerpo (por ejemplo, el nivel de uno o más de los autoanticuerpos descritos en el presente documento) en la sangre en al menos aproximadamente un 40 %, 50 %, 65 % u 80 %. En algunas realizaciones, dicha administración no tiene efecto o tiene un efecto mínimo sobre los niveles de albúmina en sangre (por ejemplo, disminuye la albúmina en sangre en menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 2 % o menos del 1 %) y/o no tiene efecto o tiene un efecto mínimo sobre los niveles de LDL en sangre (por ejemplo, aumenta el LDL en menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 2 % o menos del 1 %) en comparación con los niveles antes de la administración. En algunas realizaciones, la inmunoglobulina específica de antígeno o el autoanticuerpo está asociado con una enfermedad, como una enfermedad autoinmune.

[00151] En algunas realizaciones, la administración subcutánea crónica a un ser humano durante 12 semanas o más de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en este documento disminuye los niveles de inmunoglobulina específica de antígeno o un nivel de autoanticuerpo (por ejemplo, el nivel de uno o más de los autoanticuerpos descritos en este documento) en la sangre en al menos aproximadamente un 40 %, 50 %, 65 % u 80 %, pero no tiene efecto o tiene un efecto mínimo sobre los niveles de albúmina en sangre (por ejemplo, disminuye la albúmina en sangre en menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 2 % o menos del 1 %) y no tiene efecto o tiene un efecto mínimo sobre los niveles de LDL y/o colesterol en sangre (por ejemplo, aumenta LDL y/o colesterol en menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 2 % o menos del 1 %) en comparación con los niveles antes de la administración. En algunas realizaciones, la inmunoglobulina específica de antígeno

o el autoanticuerpo está asociado con una enfermedad, como una enfermedad autoinmune.

[00152] Ejemplos ilustrativos de autoanticuerpos asociados con enfermedades autoinmunes específicas incluye:

- anticuerpo anti-desmogleína 3 (anti-Dsg3) (asociado con pénfigo vulgar),
- anticuerpo anti-desmogleína 1 (anti-Dsg1) (asociado con pénfigo vulgar y pénfigo foliáceo),
- anticuerpo anti-penfigoide ampoloso 180 (anti-BP180 o anti-colágeno XVII) y anticuerpo anti-penfigoide ampoloso 230 (anti-BP230) (ambos asociados con el penfigoide ampoloso),
- anticuerpos contra el dominio no colágeno 1 de la cadena 3 del colágeno tipo IV (anticuerpo anti- α 3NC1) y contra el dominio no colágeno 1 de la cadena 5 del colágeno tipo IV (anticuerpo anti- α 5NC1) (ambos asociados con la enfermedad anti-MBG),
- anticuerpo anti-receptor de fosfolipasa A2 (anti-PLA2R) (asociado con la nefropatía membranosa idiopática),
- anticuerpo anti-proteinasa 3 (anti-PR3) y anticuerpo anti-mieloperoxidasa (anti-MPO) (ambos asociados con la vasculitis asociada a ANCA),
- anticuerpo anti-ADN de doble cadena (ds), anticuerpo contra el antígeno A relacionado con el síndrome de Sjögren (anticuerpo anti-SSA/Ro) y el antígeno B relacionado con el síndrome de Sjögren (anticuerpo anti-SSB/La), anticuerpo anti-Smith, anticuerpo anti-ribonucleoproteína (anti-RNP), anticuerpo anti-complemento C1q, anticuerpo anti-antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA), anticuerpo anti-cardiolipina, anticuerpo anti-glicoproteína beta2, anticuerpo anti-granzima B y anticuerpo anti-nucleosoma (todos asociados con el lupus eritematoso sistémico),
- anticuerpo antinuclear (asociado con el lupus eritematoso sistémico, la esclerosis sistémica y la hepatitis autoinmune),

- factor reumatoide, anticuerpo antipéptido citrulinado (ACPA), anticuerpo anti-CarP y anticuerpo antipéptido acetilado (AAPA) (todos asociados con artritis reumatoide),
- anticuerpo anticentrómero (ACA), anticuerpo anti-Scl-70, anticuerpo antiendotelial (AECA), anticuerpo anti-receptor de angiotensina II tipo 1 (anti-AT1R) y anticuerpo anti-receptor de endotelina-1 tipo A (anti-ETAR) (todos asociados con esclerosis sistémica),
- anticuerpo anti-partícula de reconocimiento de señal (anti-SRP) (asociado con miopatía necrotizante inmunomediada y polimiositis),
- anticuerpo anti-HMG-CoA reductasa (anti-HMGCR) (asociado con miopatía necrotizante inmunomediada),
- anticuerpo anti-Jo-1, anticuerpo anti-PL-7, anticuerpo anti-PL-12, anticuerpo anti-EJ, anticuerpo anti-OJ, anticuerpo anti-Mi-2, anticuerpo anti-ribonucleoproteína U3 (anti-U3 RNP o anti-fibrilarina), anticuerpo anti-ribonucleoproteína U2 y (anti-U2 RNP) (todos asociados con polimiositis),
- anticuerpo anti-Ku (asociado con lupus eritematoso sistémico y polimiositis),
- anticuerpo anti-proteína de matriz nuclear 2 (anti-NXP-2), anticuerpo anti-Mi2, anticuerpo anti-proteína asociada a la diferenciación del melanoma 5 (anti-MDA5) y anticuerpo anti-factor intermediario de transcripción 1-gamma (anti-TIF1γ) (todos asociados con dermatomiositis),
- anticuerpo anti-receptor de acetilcolina (anti-AChR), anticuerpo anti-quinasa específica del músculo (anti-MuSK) y anticuerpo anti-proteína relacionada con lipoproteína 4 (anti-LRP4) (todos asociados con miastenia gravis),
- anticuerpo anti-neurofascina-155 (anti-Nfasc155), anticuerpo anti-neurofascina-140/186 (anti-Nfasc140/186), anticuerpo anti-contactina-1 (anti-CNTN1) y anticuerpo anti-proteína asociada a la contactina similar a 1 (anti-Caspr1) (todos asociados con polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP)),

- anticuerpo anti-gangliósido GM1 (anti-GM1), anticuerpo anti-gangliósido GT1a (anti-GT1a) y anticuerpo anti-gangliósido GD1a (anti-GD1a) (todos asociados con Síndrome de Guillain-Barré),
- anti-ganglioside GQ1b (anti-GQ1b) antibody (associated with Guillain-Barré syndrome and Miller Fisher syndrome),
- anticuerpo anti-acuaporina-4 (anti-AQP4) (asociado con trastornos del espectro de la neuromielitis óptica),
- anticuerpos anti-NMDAR (asociados con lupus eritematoso sistémico y encefalitis autoinmune con autoanticuerpos positivos),
- anticuerpo anti-proteína 2 asociada a contactina (anti-Caspr2), anticuerpo anti-receptor de ácido gamma-aminobutírico tipo B (anti-GABAbR), anticuerpo anti-glioma rico en leucina inactivado 1 (anti-LGI1) y anticuerpo anti-proteína 11 similar a Kelch (anti-Klhl11) (todos asociados con encefalitis autoinmune con autoanticuerpos positivos),
- anticuerpo anti- β 2 glucoproteína I (anti- β 2GPI) y anticuerpo anti-fosfolípidos anticuerpo (ambos asociados con el síndrome antifosfolípido primario),
- anticuerpo anti-FcyRIIIb y anticuerpo anti-CD177 (ambos asociados con neutropenia autoinmune primaria),
- anticuerpo anti-actina de músculo liso (anti-SMA) y anticuerpo anti-microsomal de hígado y riñón (anti-LKM) (ambos asociados con hepatitis autoinmune),
- anticuerpo anti-ADAMTS13 (asociado con púrpura trombocitopénica trombótica idiopática),
- anticuerpo anti-GP IIb/IIIa plaquetario y anticuerpo anti-GP Ib/IX plaquetario (ambos asociados con púrpura trombocitopénica inmunitaria idiopática),
- inmunoglobulina inhibidora de la unión a la hormona estimulante de la tiroides (TSH) (TBI), inmunoglobulinas estimulantes de la tiroides (TSI), anticuerpo inhibidor de la unión a la tirotrópina (TBI) y anticuerpo anti-receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (anti-

IFG1R) (todos asociados con enfermedad de Graves y enfermedad ocular tiroidea),

- anticuerpo anti-peroxidasa tiroidea (anti-TPO) (asociado con tiroiditis autoinmune/tiroiditis de Hashimoto),
- anticuerpo anti-tiroglobulina (asociado con enfermedad de Graves),
- autoanticuerpo citoplasmático de células de los islotes (ICA), autoanticuerpo anti-ácido glutámico descarboxilasa (GADA), autoanticuerpo asociado al insulino-2 (IA-2A) y autoanticuerpo anti-insulina (IAA) (todos asociados con diabetes tipo 1),
- anticuerpo neutralizante anti-adenovirus, anticuerpo neutralizante anti-lentivirus, anticuerpo neutralizante anti-AAV1, AAV2, AAV3 AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8 y/o AAV9 (asociado con terapia génica previa), y
- anticuerpo anti-factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (anti-GM-CSF) (asociado con proteinosis alveolar pulmonar adquirida (PAP)).

[00153] En algunas realizaciones, la administración a un sujeto humano (por ejemplo, administración subcutánea o subcutánea crónica a un humano) de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-FcRn descrito en este documento disminuye la proteinuria en un sujeto que tiene nefritis lúpica en al menos aproximadamente un 40 %, 50 %, 65 % u 80 %, medido por los niveles de proteína en la orina del sujeto.

[00154] La dosificación preferida de la composición farmacéutica puede variar dependiendo de la condición y el peso corporal del paciente, la gravedad de la enfermedad, la forma del fármaco, la vía y la duración de la administración, pero puede ser seleccionada apropiadamente por un experto en la materia. En la composición farmacéutica para el tratamiento o prevención de una enfermedad autoinmune de la presente divulgación, el ingrediente activo puede incluirse en cualquier cantidad (cantidad efectiva) dependiendo del uso, la formulación, el propósito de la combinación y similares, siempre que pueda exhibir actividad terapéutica para una enfermedad autoinmune, o en particular, un efecto terapéutico sobre una enfermedad autoinmune. Una cantidad efectiva típica se determinará dentro del rango de 0.001 % en peso a 20.0 % en peso en base al peso total de la

composición. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de un ingrediente activo que tiene un efecto de tratamiento o mejora del estado de una enfermedad autoinmune, en particular, una cantidad de un ingrediente activo capaz de inducir un efecto de tratamiento o mejora del estado de una enfermedad autoinmune. Dicha cantidad eficaz puede determinarse empíricamente dentro de la capacidad habitual de una persona con conocimientos habituales en la materia.

[00155] En una realización, el término "tratamiento" incluye cualquier forma de administración o aplicación para tratar una enfermedad en un mamífero, incluido un ser humano. Además, el término anterior incluye inhibir o ralentizar la enfermedad o su progresión; restaurar o reparar la función dañada o faltante, aliviando así parcial o completamente la enfermedad; estimular procesos ineficientes; o aliviar enfermedades graves.

[00156] En otro aspecto, se proporciona en el presente documento un método para prevenir un trastorno autoinmunitario que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión al antígeno del mismo, o una composición farmacéutica descrita en el presente documento.

[00157] Cualquier realización del presente documento que se refiera a métodos para tratar un trastorno autoinmunitario que comprende administrar un anticuerpo anti-FcRn, un fragmento de unión al antígeno del mismo, o una composición farmacéutica también abarca el uso del anticuerpo anti-FcRn, un fragmento de unión al antígeno del mismo, o la composición farmacéutica para la preparación de un medicamento para tratar un trastorno autoinmunitario. Asimismo, cualquier realización del presente documento que se refiera a métodos para prevenir un trastorno autoinmunitario que comprende administrar un anticuerpo anti-FcRn, un fragmento de unión al antígeno del mismo, o una composición farmacéutica también abarca el uso del anticuerpo anti-FcRn, un fragmento de unión al antígeno del mismo, o la composición farmacéutica para la preparación de un medicamento para prevenir un trastorno autoinmunitario.

[00158] Los parámetros farmacocinéticos, como la biodisponibilidad, y los parámetros subyacentes, como la tasa de depuración, también pueden afectar la

eficacia. Por lo tanto, la "eficacia mejorada" (por ejemplo, la mejora de la eficacia) puede atribuirse a parámetros farmacocinéticos mejorados y a una eficacia mejorada, y puede medirse comparando parámetros como la tasa de depuración y el tratamiento o la mejora de una enfermedad autoinmune en un animal de laboratorio o en un sujeto humano.

[00159] Como se utiliza en el presente documento, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto o composición eficaz para prevenir o tratar una enfermedad diana, y significa una cantidad que es suficiente para tratar una enfermedad con una relación beneficio/riesgo razonable aplicable al tratamiento médico y que no causa efectos secundarios. El nivel de la cantidad eficaz puede determinarse de acuerdo con el estado de salud del paciente, el tipo y la gravedad de la enfermedad, la actividad del fármaco, la sensibilidad al fármaco, el método de administración, el tiempo de administración, la vía de administración y la tasa de excreción, la duración del tratamiento, factores que incluyen los fármacos combinados o utilizados simultáneamente y otros factores bien conocidos en el campo médico. En una realización, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a una cantidad de un fármaco eficaz para tratar una enfermedad autoinmune.

[00160] En este sentido, la composición farmacéutica puede comprender además un vehículo farmacéuticamente aceptable. El vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser cualquier material no tóxico adecuado para su administración a un paciente. Se pueden incluir como vehículo agua destilada, alcohol, grasas, ceras y sólidos inertes. Además, se puede incluir en la composición farmacéutica un adyuvante farmacéuticamente aceptable (tampón, agente dispersante).

[00161] Específicamente, la composición farmacéutica puede incluir un vehículo farmacéuticamente aceptable además de un ingrediente activo y se puede preparar como una formulación parenteral de acuerdo con la vía de administración mediante un método convencional conocido en la técnica. En este caso, "farmacéuticamente aceptable" significa que no inhibe la actividad de un ingrediente activo y no tiene toxicidad más allá de lo que un sujeto al que se le va a aplicar (prescribir) puede tolerar.

[00162] Cuando la composición farmacéutica se prepara como formulación parenteral, puede formularse en forma de inyecciones, preparaciones transdérmicas, inhalantes nasales y supositorios junto con un portador adecuado según métodos conocidos en la técnica. La formulación de una composición farmacéutica es conocida en la técnica y, en concreto, puede hacerse referencia a la bibliografía [Remington's Pharmaceutical Sciences (19^a ed., 1995)] y similares. La bibliografía se considera parte de la presente especificación.

[00163] La dosis preferida de la composición farmacéutica puede variar en función de la afección, el peso corporal, el sexo y la edad del paciente, la gravedad de la enfermedad, la vía de administración y similares, y puede ser seleccionada adecuadamente por un experto en la materia.

[00164] Un sujeto al que se puede aplicar (prescribir) la composición farmacéutica es un mamífero y un humano, particularmente preferiblemente un humano.

[00165] En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmune, que comprende administrar una cantidad eficaz de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a FcRn a un paciente que necesita tratamiento para una enfermedad autoinmune.

[00166] En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un método para aliviar una enfermedad autoinmune o aloinmune, que comprende administrar el anticuerpo anti-FcRn o el fragmento de unión a antígeno del mismo a un sujeto que lo necesite. Además, se proporciona una terapia anti-FcRn específica al mismo tiempo.

[00167] El método o terapia anti-FcRn para aliviar una afección autoinmune o aloinmune según la presente divulgación puede lograrse administrando la composición farmacéutica según la presente divulgación a un sujeto. La composición farmacéutica según la presente divulgación puede administrarse por vía oral o parenteral. Por ejemplo, puede administrarse a través de una vía de administración como inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular, inyección intraperitoneal, administración tópica, administración intranasal, administración intrapulmonar y administración intrarrectal. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica aquí divulgada se administra por vía subcutánea.

[00168] La dosis preferida de la composición farmacéutica puede variar dependiendo de la condición y el peso corporal del paciente, la gravedad de la enfermedad, la forma del fármaco, la ruta y la duración de la administración, pero puede ser seleccionada apropiadamente por un experto en la materia, y puede administrarse una vez o repetidamente.

[00169] En diversas realizaciones de los métodos y usos terapéuticos aquí descritos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra a un paciente como una dosis fija. En diversas realizaciones de los métodos y usos terapéuticos aquí divulgados, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra a un paciente como una dosis basada en el peso, es decir, una dosis dependiente del peso corporal del paciente. En diversas realizaciones de los métodos y usos terapéuticos aquí divulgados, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra a un paciente como una dosis basada en el área de superficie corporal, es decir, una dosis dependiente del área de superficie corporal (ASC) del paciente. En diversas realizaciones, la dosis administrada al paciente comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno.

[00170] En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 500 mg. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente por vía subcutánea en una dosis de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 500 mg, por ejemplo, una vez a la semana, una vez al mes, una vez cada 2 semanas o una vez cada 3 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) al paciente en una dosis de aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 410 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 430 mg, aproximadamente 440 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg o aproximadamente 500

mg (por ejemplo, una vez a la semana, una vez al mes, una vez cada dos semanas o una vez cada tres semanas). En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) al paciente en una dosis de al menos o más de aproximadamente 300 mg (por ejemplo, una vez a la semana, una vez al mes o una vez cada dos semanas). En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 340 mg. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 340 mg una vez a la semana, una vez al mes o una vez cada 2 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 340 mg una vez a la semana. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 340 mg una vez a la semana como una única inyección subcutánea. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 340 mg una vez a la semana durante al menos 2 semanas (p. ej., 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 10 semanas, 12 semanas o más). En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 340 mg una vez por semana durante al menos 4 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 340 mg una vez por semana durante al menos 7 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 340 mg una vez por semana durante al menos 12 semanas. En algunas realizaciones, la administración es subcutánea.

[00171] En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 700 mg. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente por vía subcutánea en una dosis de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 700 mg, por ejemplo, una vez

a la semana, una vez al mes, una vez cada dos semanas o una vez cada tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) al paciente en una dosis de aproximadamente 500 mg, aproximadamente 510 mg, aproximadamente 520 mg, aproximadamente 530 mg, aproximadamente 540 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 560 mg, aproximadamente 570 mg, aproximadamente 580 mg, aproximadamente 590 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 610 mg, aproximadamente 620 mg, aproximadamente 630 mg, aproximadamente 640 mg, aproximadamente 650 mg, aproximadamente 660 mg, aproximadamente 670 mg, aproximadamente 680 mg, aproximadamente 690 mg o aproximadamente 700 mg (por ejemplo, una vez a la semana, una vez al mes, una vez cada dos semanas o una vez cada tres semanas). En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) al paciente en una dosis máxima o inferior a aproximadamente 750 mg o 700 mg (por ejemplo, una vez a la semana, una vez al mes o una vez cada dos semanas). En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 680 mg. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 680 mg una vez a la semana, una vez al mes o una vez cada 2 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 680 mg una vez a la semana. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 680 mg una vez a la semana como dos o más (por ejemplo, dos) inyecciones subcutáneas consecutivas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 680 mg una vez a la semana durante al menos 2 semanas (por ejemplo, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 10 semanas, 12 semanas o más). En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 680 mg una vez a la semana durante

al menos 4 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 680 mg una vez por semana durante al menos 7 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 680 mg una vez por semana durante al menos 12 semanas. En algunas realizaciones, la administración es subcutánea.

[00172] En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1100 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1300 mg, aproximadamente 1400 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1600 mg, aproximadamente 1700 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 1900 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 2100 mg, aproximadamente 2200 mg, aproximadamente 2300 mg, aproximadamente 2400 mg o aproximadamente 2500 mg. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1100 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1300 mg, aproximadamente 1400 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1600 mg, aproximadamente 1700 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 1900 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 2100 mg, aproximadamente 2200 mg, aproximadamente 2300 mg, aproximadamente 2400 mg o aproximadamente 2500 mg por vía intravenosa. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al

paciente en una dosis de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1100 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1300 mg, aproximadamente 1400 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1600 mg, aproximadamente 1700 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 1900 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 2100 mg, aproximadamente 2200 mg, aproximadamente 2300 mg, aproximadamente 2400 mg o aproximadamente 2500 mg por vía subcutánea.

[00173] En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en un rango de dosis entre cualquiera de los valores de dosis a los que se hace referencia en el presente documento. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis que es menor que cualquiera de los valores de dosis a los que se hace referencia en el presente documento.

[00174] En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1100 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1300 mg, aproximadamente 1400 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1600 mg, aproximadamente 1700 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 1900 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 2100 mg, aproximadamente 2200 mg, aproximadamente 2300 mg, aproximadamente 2400 mg o aproximadamente 2500 mg una vez por semana (p. ej., por vía subcutánea).

[00175] En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 100 mg,

aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1100 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1300 mg, aproximadamente 1400 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1600 mg, aproximadamente 1700 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 1900 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 2100 mg, aproximadamente 2200 mg, aproximadamente 2300 mg, aproximadamente 2400 mg o aproximadamente 2500 mg una vez cada dos semanas. (por ejemplo, por vía subcutánea).

[00176] En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1100 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1300 mg, aproximadamente 1400 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1600 mg, aproximadamente 1700 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 1900 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 2100 mg, aproximadamente 2200 mg, aproximadamente 2300 mg, aproximadamente 2400 mg o aproximadamente 2500 mg una vez cada tres semanas. (por ejemplo, por vía subcutánea).

[00177] En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1100 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1300 mg, aproximadamente 1400 mg, aproximadamente 1500 mg,

aproximadamente 1600 mg, aproximadamente 1700 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 1900 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 2100 mg, aproximadamente 2200 mg, aproximadamente 2300 mg, aproximadamente 2400 mg o aproximadamente 2500 mg una vez al mes (por ejemplo, por vía subcutánea).

[00178] En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 300 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 2100 mg o aproximadamente 2400 mg. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 300 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 2100 mg o aproximadamente 2400 mg por vía intravenosa. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 300 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 2100 mg o aproximadamente 2400 mg por vía subcutánea. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 300 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1800 mg o aproximadamente 2100 mg una vez por semana (por ejemplo, por vía subcutánea). En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 300 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 2100 mg o aproximadamente 2400 mg una vez cada dos semanas (por ejemplo, por vía subcutánea). En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 300 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1200

mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 2100 mg o aproximadamente 2400 mg una vez cada tres semanas (por ejemplo, por vía subcutánea). En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una dosis de aproximadamente 300 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 2100 mg o aproximadamente 2400 mg una vez al mes (por ejemplo, por vía subcutánea).

[00179] En algunas realizaciones, el anticuerpo se administra (por ejemplo, por vía subcutánea) al paciente en una dosis de aproximadamente 150 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 2100 mg o aproximadamente 2400 mg, o en cualquier dosis entre dos de estas dosis (por ejemplo, se administra en esta dosis una vez a la semana por vía subcutánea, una vez cada dos semanas por vía subcutánea, una vez cada tres semanas por vía subcutánea o una vez al mes por vía subcutánea). En algunas realizaciones, las dosis proporcionadas en el presente documento son dosis adecuadas para la administración a un ser humano.

[00180] En algunas realizaciones, el anticuerpo, el fragmento de unión a antígeno o la composición farmacéutica se administra al paciente una vez a la semana o una vez al mes. En algunas realizaciones, el anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, o composición farmacéutica se administra al paciente una vez por semana durante al menos 1 semana, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 4 semanas, al menos 5 semanas, al menos 6 semanas, al menos 7 semanas, al menos 8 semanas, al menos 9 semanas, al menos 10 semanas, al menos 12 semanas, al menos 20 semanas, al menos 24 semanas, al menos 30 semanas, al menos 40 semanas, al menos 50 semanas, al menos 60 semanas, al menos 70 semanas, al menos 76 semanas, al menos 80 semanas, o durante más tiempo.

[00181] In some embodiments, the antibody, antigen-binding fragment, or pharmaceutical composition is administered to the patient once in about two or

three weeks. In some embodiments, the antibody, antigen-binding fragment, or pharmaceutical composition is administered to the patient once every other week (i.e., once in two weeks) for at least 2 weeks, at least 4 weeks, at least 6 weeks, at least 8 weeks, at least 10 weeks, at least 12 weeks, at least 20 weeks, at least 24 weeks, at least 30 weeks, at least 40 weeks, at least 50 weeks, at least 60 weeks, at least 70 weeks, at least 76 weeks, at least 80 weeks, or longer.

[00182] En algunas realizaciones, el anticuerpo, el fragmento de unión al antígeno o la composición farmacéutica se administra al paciente una vez cada dos o tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo, el fragmento de unión al antígeno o la composición farmacéutica se administra al paciente una vez cada dos semanas (es decir, una vez cada dos semanas) durante al menos 2 semanas, al menos 4 semanas, al menos 6 semanas, al menos 8 semanas, al menos 10 semanas, al menos 12 semanas, al menos 20 semanas, al menos 24 semanas, al menos 30 semanas, al menos 40 semanas, al menos 50 semanas, al menos 60 semanas, al menos 70 semanas, al menos 76 semanas, al menos 80 semanas o más.

[00183] En algunas realizaciones, el anticuerpo, el fragmento de unión al antígeno o la composición farmacéutica se administra al paciente una vez cada 3 semanas durante al menos 3 semanas, al menos 6 semanas, al menos 9 semanas, al menos 12 semanas, al menos 18 semanas, al menos 21 semanas, al menos 24 semanas, al menos 30 semanas, al menos 42 semanas, al menos 48 semanas, al menos 60 semanas, al menos 72 semanas, al menos 78 semanas, al menos 81 semanas o más.

[00184] En algunas realizaciones, el anticuerpo, fragmento de unión al antígeno o composición farmacéutica se administra al paciente una vez por semana durante 6 a 76 semanas, o cualquier período de tiempo intermedio. En algunas realizaciones, el anticuerpo, fragmento de unión al antígeno o composición farmacéutica se administra al paciente una vez por semana durante al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 4 semanas o al menos 6 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo, fragmento de unión al antígeno o composición farmacéutica se administra al paciente una vez por semana durante al menos 4 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo,

fragmento de unión al antígeno o composición farmacéutica se administra al paciente una vez por semana durante al menos 7 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo, fragmento de unión al antígeno o composición farmacéutica se administra al paciente una vez por semana durante al menos 12 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo, fragmento de unión al antígeno o composición farmacéutica se administra al paciente una vez por semana durante al menos 24 semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo, el fragmento de unión al antígeno o la composición farmacéutica se administra al paciente una vez por semana durante al menos 52 semanas.

[00185] En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en una o más dosis (por ejemplo, dos o más dosis diferentes). Por ejemplo, en algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en dos dosis diferentes, por ejemplo, al menos una dosis más alta, seguida de al menos una dosis más baja. Una dosis más alta (por ejemplo, una dosis más alta de dos dosis diferentes) puede denominarse en el presente documento dosis de "inducción", es decir, una dosis capaz de reducir el nivel de al menos un autoanticuerpo y/o anticuerpo patógeno (por ejemplo, al menos una IgG) en un paciente y/o una muestra de un paciente. Una dosis más baja (por ejemplo, una dosis más baja de dos dosis diferentes) puede denominarse en el presente documento dosis de "mantenimiento", es decir, una dosis capaz de mantener el nivel reducido de al menos un autoanticuerpo y/o anticuerpo patógeno (por ejemplo, al menos una IgG) en el paciente y/o una muestra del paciente después de al menos una dosis de inducción de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno (por ejemplo, aproximadamente el 20-80 % de los valores previos al tratamiento (dosis previa a la inducción)). En algunas realizaciones, una dosis de mantenimiento mantiene el nivel de al menos un autoanticuerpo y/o anticuerpo patógeno (por ejemplo, al menos una IgG) en el paciente y/o una muestra del paciente en aproximadamente o menos del 20 %, aproximadamente el 25 %, aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 35 %, aproximadamente el 40 %, aproximadamente el 45 %, aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 55 %, aproximadamente el 60 %, aproximadamente el 65 %, aproximadamente

el 70 %, aproximadamente el 75 % o aproximadamente el 80 % de los valores previos al tratamiento (dosis previa a la inducción).

[00186] En algunas realizaciones, la dosis de inducción y la dosis de mantenimiento se alternan, por ejemplo, el paciente puede recibir la dosis de inducción durante un primer período de tiempo seguida de la dosis de mantenimiento durante un primer período de tiempo, seguida de la dosis de inducción durante un segundo período de tiempo, opcionalmente seguida de la dosis de mantenimiento durante un segundo período de tiempo. En algunas realizaciones, el ciclo de dosis de inducción y mantenimiento (la administración de la dosis de inducción durante un período de tiempo seguida de la administración de la dosis de mantenimiento durante un período de tiempo es un ciclo) se repite una vez, dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces, siete veces o diez veces. En algunas realizaciones, el ciclo de dosis de inducción y mantenimiento se repite durante aproximadamente 3 meses, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 12 meses, aproximadamente 15 meses, aproximadamente 18 meses, aproximadamente 24 meses o más.

[00187] En algunas realizaciones, al menos una dosis más alta y/o dosis de inducción es de aproximadamente 680 mg por dosis o más (por ejemplo, aproximadamente 680 mg, aproximadamente 700 mg por dosis, aproximadamente 720 mg por dosis, aproximadamente 750 mg por dosis o más). En algunas realizaciones, la al menos una dosis más alta y/o dosis de inducción es de aproximadamente una dosis, aproximadamente 2 dosis, aproximadamente 3 dosis, aproximadamente 4 dosis o aproximadamente 5 dosis a aproximadamente 680 mg por dosis o más (por ejemplo, aproximadamente 680 mg, aproximadamente 700 mg por dosis, aproximadamente 720 mg por dosis, aproximadamente 750 mg por dosis o más). En algunas realizaciones, la al menos una dosis más alta y/o dosis de inducción es de aproximadamente 3 dosis de aproximadamente 680 mg por dosis o más (por ejemplo, aproximadamente 680 mg, aproximadamente 700 mg por dosis, aproximadamente 720 mg por dosis, aproximadamente 750 mg por dosis o más).

[00188] En algunas realizaciones, la al menos una dosis más alta y/o dosis de inducción se administra al paciente una vez, una vez a la semana, una vez cada

2 semanas o una vez al mes. En algunas realizaciones, la al menos una dosis más alta y/o dosis de inducción se administra al paciente por vía intravenosa. En algunas realizaciones, la al menos una dosis más alta y/o dosis de inducción se administra al paciente por vía subcutánea. En algunas realizaciones, cada dosis más alta se administra al paciente como una o más inyecciones subcutáneas. En algunas realizaciones, cada dosis más alta se administra al paciente como dos inyecciones subcutáneas consecutivas.

[00189] En algunas realizaciones, al menos una dosis inferior y/o dosis de mantenimiento es de aproximadamente 340 mg por dosis o más (por ejemplo, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 400 mg por dosis o más). En algunas realizaciones, la al menos una dosis inferior y/o dosis de mantenimiento es de aproximadamente una dosis, aproximadamente 2 dosis, aproximadamente 3 dosis, aproximadamente 4 dosis o aproximadamente 5 dosis de aproximadamente 340 mg por dosis o más (por ejemplo, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 400 mg por dosis o más). En algunas realizaciones, la al menos una dosis inferior y/o dosis de mantenimiento es de aproximadamente 3 dosis de aproximadamente 340 mg por dosis o más (por ejemplo, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 400 mg por dosis o más). En algunas realizaciones, la al menos una dosis más baja y/o dosis de mantenimiento se administra al paciente una vez, una vez a la semana, una vez cada 2 semanas o una vez al mes. En algunas realizaciones, la al menos una dosis más baja y/o dosis de mantenimiento se administra al paciente por vía subcutánea. En algunas realizaciones, cada dosis más baja se administra al paciente como una o más inyecciones subcutáneas. En algunas realizaciones, cada dosis más baja se administra al paciente como una inyección subcutánea.

Ejemplos

[00190] A continuación, la presente divulgación se describirá con más detalle mediante los siguientes ejemplos. Sin embargo, los siguientes ejemplos son solo para ilustrar la presente divulgación, y el alcance de la presente divulgación no se limita a los mismos.

I. Diseño de variantes para mejorar las propiedades físicas del anticuerpo HL161AN

[00191] Con el fin de mejorar la estabilidad a través de la ingeniería molecular de HL161AN, se utilizaron la herramienta in silico de Lonza y el análisis LC-MS/MS para identificar los sitios de aminoácidos que podrían afectar la estabilidad y para diseñar variantes. En la FIG. 1 se muestra un esquema del diseño in silico de las variantes de HL161AN.

[00192] Las proteínas terapéuticas, incluidos los anticuerpos, están presentes en una forma heterogénea debido a la modificación postraducciona (PTM) y la modificación química. La modificación incluye la glicosilación, la desamidación, la oxidación y similares, y se sabe que ocurre dependiendo del sistema celular huésped, el proceso de producción, las condiciones de almacenamiento y similares. Esta modificación se considera un desafío importante durante el proceso de producción de proteínas terapéuticas, ya que causa efectos secundarios como una menor eficacia, una vida útil limitada y una respuesta inmune debido a la agregación (De Groot 2006).

[00193] HL161AN es un anticuerpo anti-hFcRn en forma de IgG1 humana modificada que tiene una alta afinidad por el FcRn humano (2×10^{-10} M) y tiene un alto efecto PD en un estudio in vivo en monos cynomolgus. Sin embargo, tiene desventajas, ya que tiene una baja estabilidad térmica (aproximadamente 58,4 °C), la agregación se produce a una concentración de 30 mg/mL o más, y se identifican muchas variantes de carga en el análisis CEX-HPLC y cIEF. Por lo tanto, encontramos el sitio PTM y el sitio principal para la agregación utilizando una herramienta in silico basada en los resultados del análisis de la estructura cristalina de rayos X y la secuencia de aminoácidos, e identificamos el sitio modificado a través del análisis LC-MS/MS de la muestra HL161AN. A continuación, combinando los dos resultados, intentamos diseñar una variante que pueda reducir el riesgo de PTM y agregación.

Ejemplo 1. Evaluación in silico del riesgo de agregación y del riesgo de PTM

[00194] El riesgo de agregación y de modificación postraducciona se predijo mediante análisis in silico.

[00195] La agregación de proteínas se ve afectada por factores ambientales como el pH, la concentración, el tampón, el excipiente, la fuerza de corte y similares, y las propiedades intrínsecas. Para predecir el riesgo de agregación según la secuencia de aminoácidos, se utilizó la base de datos Sentinel APART™ de Lonza. Este es un programa validado en base a los resultados experimentales sobre la agregación de más de 500 anticuerpos. Cuando se introduce la secuencia del anticuerpo probado, se predice el riesgo de agregación. El algoritmo Sentinel APART predijo que HL161AN tendría un mayor riesgo de agregación.

[00196] Además, utilizando la herramienta in silico desarrollada por Lonza, se predijo la modificación postraducciona (PTM) como se describe a continuación (FIG. 2 y 3). Específicamente, el riesgo de la modificación postraducciona se realizó teniendo en cuenta i) la desamidación de asparagina, ii) la isomerización y fragmentación del ácido aspártico, iii) el recorte de lisina C-terminal, iv) la respuesta ADCC/CDC de Fc, la vida media y la purificación de la proteína A, v) el grupo tiol de cisteína libre, vi) N-glicosilación, O-glicosilación, vii) la oxidación y viii) la formación de piroglutamato, y similares.

[00197] Como resultado del análisis de la secuencia de aminoácidos de HL161AN, se predijo la posibilidad de desamidación de asparagina en 4 sitios de la cadena ligera (L) y 12 sitios de la cadena pesada (H). La mayoría de ellos eran asparaginas conservadas y se predijo que tenían un riesgo bajo, y 4 sitios tenían la posibilidad de desamidación, pero no correspondían a las regiones CDR, por lo que se confirmó que no se requería ingeniería de proteínas. En consecuencia, se analizó que solo L:Asn25 de la región CDR de la cadena ligera requería ingeniería de proteínas.

[00198] Además, un grupo tiol de cisteína libre da como resultado un plegamiento incorrecto de proteínas, agregación, unión tisular no específica, inmunogenicidad y potencialmente baja productividad. Como resultado de

confirmar si HL161AN tiene un grupo tiol de cisteína libre, se encontró un grupo tiol libre en H:Cys32, y se determinó que era necesaria la ingeniería de proteínas de este aminoácido.

Ejemplo 2. Análisis del sitio PTM mediante análisis LC-MS/MS

[00199] La modificación de la desamidación y oxidación para 2 lotes de HL161AN se analizó por LC-MS/MS. Como resultado del mapeo de péptidos utilizando dos enzimas, es decir, mezcla de tripsina + Lys C y quimotripsina, se confirmó una cobertura de secuencia del 100 % (FIG. 4).

[00200] Como resultado del análisis de modificación, se confirmaron la desamidación y oxidación en 7 y 6 sitios en la muestra estándar interna de HL161AN, respectivamente, y en 10 y 8 sitios en la muestra B012 de HL161AN, respectivamente.

[00201] Los sitios de desamidación y oxidación de la muestra de HL161AN por LC-MS/MS se resumen y se muestran en las Tablas 2 y 3, respectivamente, a continuación.

[Tabla 2]

Sitio	Muestra estándar interna	HL161AN B012
L:Asn25	√	
L:Gln36		√
L:Gln37		√
L:Asn130		√
H:Asn74	√	
H:Gln82	√	
H:Asn84		√
H:Gln113	√	√
H:Asn280		√
H:Asn319	√	√
H:Gln351		√
H:Asn388	√	√
H:Gln390		√
H:Gln422	√	

Sitio	Muestra estándar interna	HL161AN B012
Total	7	10

[Tabla 3]

Sitio	Muestra estándar interna	HL161AN B012
L:Trp34	√	√
L:Trp197		√
H:Met34	√	√
H:Met83	√	√
H:Trp102		√
H:Met256	√	√
H:Asn319	√	√
H:Asn388	√	√
Total	6	8

Ejemplo 3. Selección de sitios a modificar

[00202] Con base en los resultados del análisis in silico y los resultados de LC-MS/MS, se seleccionaron los aminoácidos de sustitución para los tres sitios de aminoácidos (L:Asn25, H:Cys32, H:Gln82) que se determinó que requieren modificación. A partir de los datos del análisis de la estructura por cristalografía de rayos X, estos tres sitios de aminoácidos están lejos de la región CDR que se une al antígeno objetivo, por lo que se determinó que la sustitución no afectaría la afinidad (FIG. 5). En la selección de la sustitución de aminoácidos, se determinó que la sustitución con serina (Ser) o glutamina (Gln) para L:Asn25; serina (Ser) o tirosina (Tyr) para H:Cys32; y serina (Ser), treonina (Thr) o ácido glutámico (Glu) para H:Gln82 podría reducir el riesgo de PTM. Para cada método de selección de aminoácidos se utilizó un método de sustitución de cadena lateral químicamente similar, como la sustitución de asparagina por glutamina (Tabla 4). Con base en estos resultados, se diseñaron 2 cadenas ligeras y 11 cadenas pesadas (Tabla 5).

[00203] Las sustituciones sugeridas de los sitios PTM seleccionados se resumen y se muestran en la Tabla 4 a continuación, y las variantes diseñadas de HL161AN se resumen y se muestran en la Tabla 5 a continuación.

[Tabla 4]

Sitio PTM seleccionado	Sustitución sugerida	Descripción
L:Asn25	glutamina	Sustitución conservadora. Sin embargo, la glutamina no se produce de forma natural en este sitio.
L:Asn25	serina	Una alternativa a la glutamina es una sustitución neutra de la cadena lateral pequeña y preferiblemente polar.
H:Cys32	serina	La cadena lateral de la serina es más similar a la cadena lateral de la cisteína.
H:Cys32	tirosina	La tirosina se basa principalmente en alineaciones de secuencias comúnmente identificadas.
H:Gln82	ácido glutámico	Cadena lateral similar Sin embargo, la introducción de una carga negativa afecta el punto isoeléctrico y, por lo tanto, puede afectar la potencia.
H:Gln82	serina	El rotámero de serina muestra una mejor posibilidad de unión de hidrógeno en la cadena lateral.
H:Gln82	treonina	La cadena lateral ramificada beta de treonina tiene una mejor posibilidad de cadena beta, lo que puede mostrar una mejor estabilidad.

[Tabla 5]

Nombre de la cadena	Descripción
Cadena ligera	
HL161AN_LC_1	L:N25S
HL161AN_LC_2	L:N25Q
Cadena pesada	
HL161AN_HC_1	H:C32S

HL161AN_HC_2	H:C32Y
HL161AN_HC_3	H:Q82S
HL161AN_HC_4	H:Q82T
HL161AN_HC_5	H:Q82E
HL161AN_HC_6	H:C32S, H:Q82S
HL161AN_HC_7	H:C32S, H:Q82T
HL161AN_HC_8	H:C32S, H:Q82E
HL161AN_HC_9	H:C32Y, H:Q82S
HL161AN_HC_10	H:C32Y, H:Q82T
HL161AN_HC_11	H:C32Y, H:Q82E

[00204] Combinando la serie de resultados anteriores, se obtiene lo que se describe a continuación.

[00205] Con el propósito de mejorar la estabilidad a través de la ingeniería molecular de HL161AN, se utilizaron la herramienta in silico de Lonza y el análisis LC-MS/MS para identificar sitios de aminoácidos que podrían afectar la estabilidad y para diseñar variantes a través de mutaciones.

[00206] Como resultado, se determinó que los tres sitios de aminoácidos (L:Asn25, H:Cys32, H:Gln82) del anticuerpo HL161AN requerían ingeniería. Se determinó que la sustitución con serina o glutamina para L:Asn25; serina o tirosina para H:Cys32; y serina, treonina o ácido glutámico para H:Gln82 podría reducir el riesgo de PTM. Se diseñaron un total de 22 variantes de HL161AN (2 cadenas ligeras y 11 cadenas pesadas de variantes de HL161AN) mediante sustitución de aminoácidos.

[00207] A continuación, se prepararon 22 variantes mediante un método de mutagénesis dirigida al sitio y, a continuación, se examinaron los anticuerpos con estabilidad mejorada mediante evaluaciones in vitro e in vivo.

II. Detección in vitro de variantes del anticuerpo HL161AN

[00208] HL161AN tiene una excelente eficacia farmacológica in vitro/in vivo, pero tiene desventajas, ya que tiene malas propiedades fisicoquímicas, por lo que la estabilidad de almacenamiento es deficiente y la formulación SC (subcutánea) de alta concentración es difícil. Para mejorar esto, se determinaron los sitios que podrían afectar la estabilidad del anticuerpo como se describió anteriormente a

través del análisis de la secuencia de aminoácidos y la estructura molecular de HL161AN, y se prepararon un total de 22 variantes de HL161AN mediante ingeniería de los sitios de aminoácidos derivados (Tabla 6). A continuación, se realizó una evaluación in vitro mediante la producción de 22 variantes de HL161AN obtenidas.

Ejemplo de preparación 1. Preparación de los materiales de prueba

Ejemplo de preparación 1.1. Muestra de estándar de referencia

HL161AN (Estándar de referencia, RS): control 1

- Número de lote: HL161AN/16E11/ST01
- Concentración: 13 mg/mL
- Tampón de formulación: 100 mM de histidina, 100 mM de arginina-HCl, pH 6,0

- Condiciones de almacenamiento: $\leq -60^{\circ}\text{C}$

Ejemplo de preparación 1.2. Plásmido variante HL161AN

- 2 mutaciones de cadena ligera y 11 mutaciones de cadena pesada
- Condiciones de almacenamiento: $\leq -60^{\circ}\text{C}$

[00209] En la secuencia de aminoácidos de HL161AN, se sustituyeron dos o más aminoácidos como se muestra en la Tabla 6 a continuación.

[Tabla 6]

Variante N°	Cadena ligera	Cadena pesada	Variante N°	Cadena ligera	Cadena pesada
1	N25S	C32S	12	N25Q	C32S
2		C32Y	13		C32Y
3		Q82S	14		Q82S
4		Q82T	15		Q82T
5		Q82E	16		Q82E
6		C32SQ82S	17		C32SQ82S
7		C32SQ82T	18		C32SQ82T
8		C32SQ82E	19		C32SQ82E
9		C32YQ82S	20		C32YQ82S
10		C32YQ82T	21		C32YQ82T
11		C32YQ82E	22		C32YQ82E

Ejemplo 4. Primera evaluación in vitro de 22 variantes de HL161AN

[00210] Se evaluaron 22 variantes de HL161AN en comparación con el anticuerpo de control HL161AN.

Ejemplo 4.1. Producción de muestras

[00211] Un día antes de la transfección, las células Expi293F se sembraron en un matraz Erlenmeyer de 500 mL a 1×10^6 células/mL (volumen de 100 mL) y luego se incubaron en una incubadora con 8% de CO₂, 125 rpm, 37°C durante 24 horas mientras se agitaba. El día de la transfección, la concentración celular se ajustó a 2×10^6 células/mL, y luego las células se transfectaron con el ADN plasmídico de cada variante. El plásmido de anticuerpo se diluyó a 1 µg/µL en agua LAL (Lonza Bioscience). Se añadieron 0.12 mL del plásmido de cadena pesada y 0.12 mL del plásmido de cadena ligera a 5 mL de Opti-MEM SFM, respectivamente, y se suspendieron. Se añadieron 0.24 mL de FectoPro a 5 mL de Opti-MEM SFM y se suspendió.

[00212] El ADN plasmídico y FectoPro se mezclaron 1:1 y se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos, y luego se agregaron al matraz que contenía las células. Se incubó en una incubadora de 8% de CO₂, condiciones de 37°C a 125 rpm durante 3 horas mientras se agitaba, y luego se agregaron 100 µL de refuerzo para continuar el cultivo. El día 6 de cultivo, la solución de cultivo se colocó en una botella de centrifuga de 250 mL y se centrifugó a 3000 rpm, durante 15 minutos, y luego solo se recolectó el sobrenadante y se filtró a través de un filtro de tapa de botella de 0.2 µm. El nivel de expresión del anticuerpo en el medio de cultivo recuperado se cuantificó utilizando un bioanalizador Cedex.

[00213] Como resultado, se expresaron transitoriamente un total de 22 variantes del anticuerpo HL161AN utilizando células Expi293F. La transfección se llevó a cabo en una escala de cultivo de 100 mL para obtener un medio de expresión en una cantidad de 0.5 mg o más para cada anticuerpo, y el medio de cultivo se recolectó el sexto día. El nivel de expresión en el medio obtenido fue de 65-181 mg/L (Tabla 7). Los resultados de producción para 22 variantes de HL161AN se resumen y se muestran en la Tabla 7 a continuación.

[Tabla 7]

N° Variante	Nivel de Expresión (mg/L)	Purificación	
		IgG (mg)	Pureza (SEC-HPLC, %)
1	81	3.6	99.2
2	94	6.0	98.0
3	88	1.8	97.4
4	105	5.7	97.3
5	91	4.7	96.8
6	142	8.3	99.0
7	116	7.2	98.8
8	119	5.0	97.6
9	116	7.0	99.2
10	88	9.0	99.3
11	117	7.2	99.4
12	181	10.0	99.0
13	97	10.0	99.7
14	99	5.3	97.4
15	114	6.2	97.4
16	138	7.3	97.5
17	65	4.0	98.8
18	93	4.0	99.0
19	89	6.0	99.0
20	105	4.5	99.3
21	114	7.5	99.7
22	81	10.7	98.3

Example 4.2. Purification of antibodies

[00214] La purificación de la muestra se llevó a cabo mediante el envasado de 1.5 ml de resina MabSelect SuRe™ LX en una columna de cromatografía Poly-prep®. Se utilizó PBS 1X (pH 7.4) como tampón de unión y tampón de lavado, y la elución se llevó a cabo mediante fraccionamiento por 1.5 ml utilizando un tampón de glicina 0.1 M (pH 3.0). Todos los tubos de fracción se neutralizaron a pH 7,0 añadiendo Tris-

HCl 1 M (pH 9.0) y luego se agruparon. El eluyente agrupado se purificó mediante intercambio de tampón con un tampón de fosfato de citrato (pH 8.0) y concentración a 1,0 mg/ml utilizando un centricon Millipore (punto de corte de 30 kDa). El Estándar de referencia (RS) HL161AN también se utilizó para la evaluación in vitro mediante intercambio de tampón con un tampón de fosfato de citrato (pH 8.0) de la misma manera que la variante HL161AN. Para cada muestra, se midió el valor A280 utilizando un Nanodrop y se calculó la concentración. En función del valor cuantitativo, para cada anticuerpo, se confirmó el estado de la muestra mediante análisis SDS-PAGE.

[00215] Como resultado, la solución de cultivo obtenida mediante la expresión transitoria de un total de 22 variantes de anticuerpo HL161AN utilizando células Expi293F se purificó mediante una columna de proteína A y se concentró a una concentración de 1.0 mg/ml. Se confirmó que la muestra producida tenía una pureza del 97 % o más mediante análisis SDS-PAGE y SEC-HPLC (FIG. 6 y Tabla 7).

Ejemplo 4.3. Análisis SPR

[00216] El análisis SPR (resonancia de plasmón superficial) se realizó en dos condiciones de pH 6.0 y pH 7.4 utilizando un equipo Proteon XPR36. shFcRn (FcRn humano soluble) se inmovilizó en un chip GLC y las muestras de anticuerpos se hicieron reaccionar a 5 concentraciones y, a continuación, se obtuvieron los resultados del sensogramas. El análisis cinético se realizó utilizando un modelo de unión de Langmuir 1:1 y el valor de KD promedio se obtuvo repitiendo el análisis 6 veces en cada condición de pH 6,0 y pH 7.4.

[00217] La activación del chip se realizó en condiciones de EDAC/NHS 0.5X, 30 µL/min y 300 seg. A continuación, se preparó shFcRn a 2 µg/mL, 250 µL utilizando un tampón de acetato (pH 5.5) y se realizó la inmovilización mientras fluía a 30 µL/min. La reacción se detuvo cuando el nivel de inmovilización correspondió a 200 RU a 300 RU. A continuación, se realizó la desactivación utilizando etanolamina a 30 µL/min, 300 s. Las muestras de anticuerpos se prepararon mediante dilución en serie de 1/2 a 5 nM, 2.5 nM, 1.25 nM, 0.625 nM y 0.312 nM en función de una concentración de 10 nM. La dilución de la muestra se realizó utilizando un tampón 1X PBST (pH 7.4) o 1X PBST (pH 6.0) según el pH del análisis. En las condiciones de análisis de la muestra, la asociación se llevó a cabo mediante reacción a 50

$\mu\text{L}/\text{min}$, 200 seg., y la disociación se llevó a cabo mediante reacción a $50 \mu\text{L}/\text{min}$, 600 seg. A continuación, la reacción se llevó a cabo utilizando un tampón de glicina (pH 2.0) a $100 \mu\text{L}/\text{min}$, 18 seg., para realizar la regeneración. Para el análisis cinético, se prepararon muestras y se hicieron reaccionar una vez en tres células a las que se inmovilizó shFcRn. A continuación, se obtuvieron tres valores cinéticos y, a continuación, se midió un valor medio de KD. Al analizar las señales de reacción, se utilizaron la referencia entre puntos y las señales en las que solo se analizó el tampón para una doble referencia.

[00218] Como se describió anteriormente, se realizó un análisis SPR en 22 variantes del anticuerpo HL161AN a pH 6. y pH 7.4. Como resultado, las variantes HL161AN exhibieron una afinidad de unión similar en comparación con una afinidad de unión de HL161AN a shFcRn ($1,16\text{E}-10 \text{ M}$ (a pH 6.0) y $2.94\text{E}-10 \text{ M}$ (a pH 7.4)) (FIG. 7 y Tabla 8).

[00219] Los resultados cinéticos de las variantes HL161AN se resumen y se muestran en la Tabla 8 a continuación.

[Tabla 8]

N° Variante	LC	HC	pH 6.0				pH 7.4			
			Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)	%CV	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)	%CV
HL161AN	-	-	3.32E+06	3.84E-04	1.16E-10	9%	1.84E+06	5.42E-04	2.94E-10	36%
1	N25S	C32S	3.58E+06	4.63E-04	1.29E-10	17%	3.22E+06	3.92E-04	1.22E-10	16%
2	N25S	C32Y	2.91E+06	4.33E-04	1.49E-10	37%	2.10E+06	4.35E-04	2.07E-10	12%
3	N25S	Q82S	3.40E+06	4.91E-04	1.45E-10	47%	2.22E+06	4.42E-04	1.99E-10	18%
4	N25S	Q82T	3.01E+06	4.69E-04	1.56E-10	34%	2.04E+06	4.91E-04	2.40E-10	16%
5	N25S	Q82E	2.46E+06	5.63E-04	2.29E-10	45%	1.17E+06	7.43E-04	6.37E-10	21%
6	N25S	C32SQ82S	3.39E+06	5.52E-04	1.63E-10	33%	1.50E+06	6.87E-04	4.59E-10	11%
7	N25S	C32SQ82T	3.28E+06	4.98E-04	1.52E-10	33%	2.32E+06	4.32E-04	1.87E-10	15%
8	N25S	C32SQ82E	3.02E+06	4.77E-04	1.58E-10	24%	2.27E+06	4.96E-04	2.18E-10	27%
9	N25S	C32YQ82S	2.85E+06	5.05E-04	1.77E-10	42%	2.04E+06	4.99E-04	2.45E-10	16%
10	N25S	C32YQ82	2.80E+06	5.73E-04	2.05E-10	48%	1.93E+06	4.94E-04	2.56E-10	34%

N° Variante	LC	HC	pH 6.0				pH 7.4			
			Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)	%CV	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)	%CV
		T	6	04	10		06	04	10	
11	N25S	C32TQ82E	2.56E+06	4.86E-04	1.90E-10	35%	1.86E+06	4.87E-04	2.62E-10	6%
12	N25Q	C32S	3.02E+06	5.49E-04	1.81E-10	35%	2.38E+06	4.99E-04	2.09E-10	1%
13	N25Q	C32Y	2.77E+06	5.56E-04	2.00E-10	26%	1.88E+06	4.44E-04	2.36E-10	28%
14	N25Q	Q82S	2.68E+06	5.58E-04	2.08E-10	43%	1.95E+06	5.51E-04	2.83E-10	20%
15	N25Q	Q82T	2.27E+06	6.01E-04	2.65E-10	35%	1.84E+06	5.13E-04	2.79E-10	24%
16	N25Q	Q82E	2.05E+06	5.56E-04	2.71E-10	38%	1.86E+06	5.04E-04	2.72E-10	46%
17	N25Q	C32SQ82S	3.19E+06	5.38E-04	1.69E-10	30%	2.27E+06	5.66E-04	2.49E-10	35%
18	N25Q	C32SQ82T	2.84E+06	5.62E-04	1.98E-10	32%	2.39E+06	5.42E-04	2.26E-10	37%
19	N25Q	C32SQ82E	2.09E+06	5.75E-04	2.75E-10	33%	2.12E+06	4.89E-04	2.30E-10	47%
20	N25Q	C32YQ82S	2.54E+06	5.09E-04	2.00E-10	47%	1.98E+06	5.60E-04	2.83E-10	40%
21	N25Q	C32YQ82T	2.67E+06	5.52E-04	2.06E-10	29%	2.39E+06	4.99E-04	2.09E-10	38%
22	N25Q	C32TQ82E	1.98E+06	5.22E-04	2.64E-10	42%	1.70E+06	6.47E-04	3.81E-10	21%

Ejemplo 4.4. Análisis de la unión de hFcRn a variantes de anticuerpos mediante FACS

[00220] El análisis de la unión de hFcRn utilizando FACS se llevó a cabo en dos condiciones de pH 6.0 y pH 7.4. Las células HEK293 que expresan hFcRn (hFcRn HEK293) se diluyeron con el tampón de reacción (BSA al 0.05 % en PBS, pH 6.0 o pH 7.4) y se prepararon por duplicado en una placa de 96 pocillos a 1×10^5 células para cada muestra. Además, cada muestra de anticuerpo se diluyó con el tampón de reacción a 10 nM, y luego se colocó en una placa de 96 pocillos y se incubó a 4 °C durante 90 minutos. A continuación, la placa se centrifugó para eliminar el sobrenadante y luego se añadió a la misma el anticuerpo anti-hIgG de cabra Alexa488 (1:200), y se incubó nuevamente a 4 °C durante 90 minutos. Una vez completada la reacción, se centrifugó para eliminar el sobrenadante y se añadieron

200 μ L del tampón de reacción para resuspender el sedimento celular y, a continuación, se midió el valor de MFI en un instrumento FACS.

[00221] Como se describió anteriormente, se llevó a cabo una evaluación de unión mediante FACS para 22 variantes de anticuerpo HL161AN a pH 6.0 y pH 7.4. Como resultado, 22 variantes de HL161AN exhibieron valores de MFI similares a los de HL161AN (FIG. 8).

Ejemplo 4.5. Análisis de la capacidad de bloqueo de hFcRn de los anticuerpos utilizando FACS

[00222] Se sembraron 1×10^7 células hFcRn HEK293 en un matraz T75 y se cultivaron durante 24 horas. Después del cultivo, se retiraron las células y se colocaron en una placa de 96 pocillos a 1×10^5 células para cada muestra por duplicado. A continuación, se añadieron cada muestra de anticuerpo (0.2, 2, 20 y 200 nM) y 100 nM de Alexa488-hIgG1 en una proporción de 1:1 y se incubaron a 4 °C durante 90 minutos. Una vez completada la reacción, se centrifugó para eliminar el sobrenadante. Se añadieron 200 μ L del tampón de reacción para resuspender el sedimento celular y, a continuación, se midió el valor de MFI en un instrumento FACS. Cada valor de MFI se convirtió en % de bloqueo y el valor de EC50 se obtuvo ajustando con 4-PL.

[00223] Como resultado, se llevó a cabo una evaluación de bloqueo mediante FACS a 0.1 nM, 1 nM, 10 nM y 100 nM. Cada anticuerpo bloqueó de manera dependiente de la concentración y se confirmó que los valores de CE50 eran similares. De manera similar a los resultados del análisis de unión de hFcRn mediante FACS, se confirmó que los valores de CE50 de 22 variantes de HL161AN eran similares a los del anticuerpo de control HL161AN. En consecuencia, se determinó que la sustitución de aminoácidos no afectó la función de las variantes de HL161AN (FIG. 9).

Ejemplo 4.6. Evaluación de la estabilidad

[00224] Se tomaron alícuotas de 200 μ L de la muestra purificada en un tubo de 1.5 mL y luego las muestras se almacenaron en condiciones aceleradas a 40 °C durante hasta 4 semanas, y las muestras de las semanas 0, 1, 2 y 4 se analizaron mediante SEC-HPLC. El análisis de cada muestra se realizó en las condiciones de análisis

SEC-HPLC que se muestran en la Tabla 9 a continuación, y se analizó el grado de estabilidad en condiciones aceleradas.

[Tabla 9]

Columna	TSK G3000SWXL
Fase móvil	Fosfato de potasio 0.2 M, cloruro de potasio 0.25 M, pH 6.2
Temperatura	columna 25°C, muestra 4°C
Detección UV	214 nm
Volumen de inyección	100 µL
Tasa de flujo	0.5 mL/min
Tiempo de ejecución	30 minutos

[00225] Las muestras se almacenaron en condiciones aceleradas a 40 °C durante hasta 4 semanas y se analizó la estabilidad de las muestras mediante SEC-HPLC. Como resultado, en el caso de HL161AN, los agregados aumentaron en un 47.5 % y los fragmentos aumentaron en un 4.8 % en la muestra en la semana 4 en comparación con la muestra en la semana 0. Por otro lado, la tasa de producción de agregados de 22 variantes fue del 5.6 % al 39.6 %, que se redujo en comparación con HL161AN, y la tasa de producción de fragmentos fue del 3.2 % al 12.3 %, que se incrementó o fue similar a la de HL161AN (FIG. 10, FIG. 11 y Tabla 10).

[Tabla 10]

N° Variante	Δ agregados (% área)			Δ pico principal (% área)			Δ fragmentos (% área)		
	1 sem	2 sem	4 sem	1 sem	2 sem	4 sem	1 sem	2 sem	4 sem
HL161AN	15.6	40.9	47.5	-16.6	-44.5	-52.3	1.0	3.5	4.8
1	0.5	3.7	9.3	-1.1	-9.8	-21.5	0.5	6.1	12.2
2	1.8	4.6	9.2	-2.0	-6.8	-12.4	0.2	2.3	3.2
3	10.6	19.7	34.2	-11.7	-23.7	-39.3	1.1	4.0	5.1
4	9.1	15.9	29.0	-10.0	-19.5	-33.2	0.9	3.6	4.3
5	7.0	13.2	27.4	-8.0	-16.3	-32.0	0.9	3.2	4.6
6	2.2	4.8	12.8	-2.5	-11.5	-22.4	0.7	6.8	9.6

7	1.3	3.6	10.0	-1.9	-10.2	-20.3	0.7	6.7	10.3
8	0.9	3.3	7.7	-1.6	-10.0	-17.8	0.7	6.7	10.1
9	1.5	6.9	16.7	-2.2	-9.8	-20.3	0.7	2.9	3.6
10	1.3	4.9	14.1	-1.3	-7.9	-17.6	0.0	2.3	3.5
11	0.8	6.1	9.6	-1.5	-8.2	-13.1	0.7	2.1	3.5
12	0.8	2.8	5.6	-1.3	-9.4	-17.1	0.5	6.6	11.5
13	1.5	4.1	8.2	-1.5	-6.2	-11.6	0.0	2.1	3.4
14	10.8	25.3	39.6	-11.9	-28.1	-45.8	1.1	2.9	6.2
15	8.4	19.8	30.3	-9.3	-22.3	-34.9	0.9	2.5	4.6
16	6.6	19.7	24.3	-7.5	-24.4	-28.7	0.9	4.7	4.3
17	0.9	5.1	11.6	-1.6	-11.3	-23.3	0.6	6.2	11.7
18	0.4	4.3	10.3	-0.9	-10.7	-22.6	0.5	6.4	12.3
19	0.7	3.6	8.6	-1.2	-10.7	-20.9	0.5	7.2	12.3
20	3.0	10.7	16.6	-3.9	-13.0	-20.4	0.9	2.3	3.8
21	1.7	7.8	14.1	-1.7	-10.0	-18.1	0.0	2.2	4.0
22	0.8	5.4	9.6	-1.5	-7.5	-13.4	0.8	2.1	3.7

Ejemplo 4.7. Análisis DSC

[00226] Se llevó a cabo un análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) utilizando el instrumento NANO DSC (TA Instrumento, PN:602000, SN: K10126), y los valores de T_m se analizaron con un modelo a escala de dos estados utilizando el software NanoAnalyze. El análisis de DSC fue realizado por K Bio Health (Fundación de Innovación Médica de Osong, Centro de Apoyo al Desarrollo de Nuevos Medicamentos).

[00227] Se analizó la estabilidad térmica de las variantes de HL161AN. Como resultado, como se muestra en la Tabla 11 a continuación, el valor de T_m de HL161AN fue de 58.4 °C y los valores de T_m de las variantes de HL161AN fueron de 60 °C a 61.5 °C. Por lo tanto, se confirmó que los valores de T_m de las variantes de HL161AN aumentaron hasta 2 °C en comparación con HL161AN.

La estabilidad térmica de las variantes HL161AN se resume y se muestra en la Tabla 11 a continuación.

[Tabla 11]

N° Variante	Fab Tm (°C)
HL161AN	58.4
1	60.8
2	59.9
8	61.2
11	60.1
12	61.4
13	60.4
19	61.5
22	60.4

[00228] Los resultados de la primera evaluación in vitro de 22 variantes de HL161AN descritas anteriormente se resumen y se muestran en la Tabla 12 a continuación.

[00229] Se llevó a cabo la evaluación de la afinidad de unión/bloqueo y estabilidad de FcRn para un total de 22 variantes de HL161AN. Como resultado, se confirmó que la afinidad de unión y el efecto de bloqueo eran similares a los de HL161AN, y todas las variantes de HL161AN habían mejorado la estabilidad en términos de producción de agregados en comparación con HL161AN. En consecuencia, se seleccionaron las ocho variantes principales que tenían una tasa de producción de agregados reducida de menos del 10 % cuando se almacenaron en condiciones de 40 °C durante 4 semanas, y se decidió seleccionar la molécula líder final después de preparar una muestra de alta concentración y realizar la segunda selección in vitro.

[Tabla 12]

Variante n°	LC	HC	Exp. ¹⁾	SPR ²⁾ (KD, nM)		Unión FACS (10nM, MFI)		Unión FACS (EC ₅₀ , nM)	Condiciones de estabilidad acelerada ³⁾			Selección de molécula líder
				pH6.0	pH7.4	pH6.0	pH7.4	pH6.0	1-0sem	2-0sem	4-0sem	
HL161AN	N25	C32	++	0.10	0.27	2718	6147	1.83	15.6	40.9	47.5	
12	N25Q	C32S	+++	0.18	0.21	2767	6944	1.65	0.8	2.8	5.6	O
8	N25S	C32SQ82E	++	0.14	0.28	2832	6763	1.47	0.9	3.3	7.7	O
13	N25Q	C32Y	+	0.21	0.32	2596	6732	1.38	1.5	4.1	8.2	O
19	N25Q	C32SQ82E	+	0.32	0.36	2639	6474	1.14	0.7	3.6	8.6	O
2	N25S	C32Y	+	0.10	0.20	2497	6200	1.27	1.8	4.6	9.2	O
1	N25S	C32S	+	0.12	0.12	2722	6464	1.44	0.5	3.7	9.3	O
11	N25S	C32YQ82E	++	0.14	0.28	2584	6319	1.36	0.8	6.1	9.6	O
22	N25Q	C32YQ82E	+	0.21	0.30	2394	5861	1.30	0.8	5.4	9.6	O
7	N25S	C32SQ82T	++	0.11	0.21	2547	6621	1.28	1.3	3.6	10.0	
18	N25Q	C32SQ82T	+	0.25	0.33	2521	6911	1.15	0.4	4.3	10.3	
17	N25Q	C32SQ82S	+	0.22	0.30	2638	6750	1.30	0.9	5.1	11.6	
6	N25S	C32SQ82S	++	0.13	0.47	2646	6925	1.31	2.2	4.8	12.8	
10	N25S	C32YQ82T	+	0.15	0.36	2575	6659	1.37	1.3	4.9	14.1	
21	N25Q	C32YQ82T	++	0.18	0.30	2431	6026	1.11	1.7	7.8	14.1	
20	N25Q	C32YQ82S	+	0.17	0.35	2516	5844	1.16	3.0	10.7	16.6	
9	N25S	C32YQ82S	++	0.16	0.29	2658	6752	1.43	1.5	6.9	16.7	
16	N25Q	Q82E	++	0.33	0.43	2537	6209	1.74	6.6	19.7	24.3	
5	N25S	Q82E	+	0.16	0.67	2566	6350	1.46	7.0	13.2	27.4	
4	N25S	Q82T	++	0.11	0.27	2689	6299	1.47	9.1	15.9	29.0	
15	N25Q	Q82T	++	0.33	0.36	2569	6538	1.10	8.4	19.8	30.3	
3	N25S	Q82S	+	0.10	0.21	2445	6238	1.40	10.6	19.7	34.2	
14	N25Q	Q82S	+	0.20	0.35	2587	6487	1.29	10.8	25.3	39.6	

1) Nivel de expresión transitoria de Expi293F, >150 mg/L (+++), 100-150 mg/L (++) , <100 mg/L (+)

2) hFcRn se inmovilizó en un chip y reaccionó con un anticuerpo.

3) Aumento de la tasa (%) de agregados a pH 8.0 y 40 °C mediante SEC-HPLC

Ejemplo 5. Segunda evaluación in vitro de muestras de alta concentración de ocho variantes de HL161AN

[00230] Se evaluaron las ocho variantes de alta concentración de HL161AN y el anticuerpo de control HL161AN.

Ejemplo 5.1. Producción de muestras

[00231] El método de cultivo para producir una muestra de alta concentración es el mismo que el método del Ejemplo 4.1, y para obtener 120 mg o más del anticuerpo, se cultivó 1 L o más para cada variante de anticuerpo.

Ejemplo 5.2. Purificación de anticuerpos

[00232] El método de purificación de la muestra es el mismo que en el Ejemplo 4.2, y el eluyente se intercambió con un tampón de histidina 50 mM (pH 5.0) y se concentró a una concentración de aproximadamente 150 mg/mL para

completar la purificación. En el caso del Estándar de Referencia (RS) HL161AN, de la misma manera que en las variantes HL161AN, el eluyente se intercambió con 50 mM de histidina (pH 5.0) y se concentró a una concentración de aproximadamente 150 mg/mL para obtener la muestra. Para cada muestra de anticuerpo, se calculó la concentración utilizando un Nanodrop y se realizó un análisis SDS-PAGE en función de esto para confirmar el estado de la muestra.

Ejemplo 5.3. Producción de muestras de alta concentración de variantes de HL161AN

[00233] Las ocho variantes de HL161AN seleccionadas en la primera evaluación in vitro se expresaron transitoriamente en células Expi293F de la misma manera que en el Ejemplo 5.1 y el Ejemplo 5.2 anteriores y se purificaron para prepararlas a una concentración de 150 mg/mL o más. Se utilizó HL161AN concentrando el producto estándar a una alta concentración. Todas las muestras se analizaron mediante A280 y SEC-HPLC después de la producción (Tabla 13), y se confirmó que todas las muestras excepto la variante n.º 2 y la variante n.º 13 tenían una alta pureza del 98 % o más. En el caso de la variante n.º 2 y la variante n.º 13, se observó un precipitado durante el proceso de concentración, y se confirmó que la pureza SEC-HPLC era tan baja como aproximadamente el 93 % (Tabla 13).

[Tabla 13]

Variante N°	A280 (mg/mL)	SEC-HPLC (%)
HL161AN	152.6	98.7
1	149.6	98.8
2	153.5	92.9
8	161.7	98.7
11	161.3	98.9
12	157.9	98.6
13	158.1	93.1
19	163.2	98.9
22	161.3	98.9

Ejemplo 5.4. Análisis de la unión de hFcRn a anticuerpos mediante

FACS

[00234] Se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 4.4. Para las ocho variantes de HL161AN de alta concentración y HL161AN, la evaluación de la unión de hFcRn se realizó a pH 6.0 y pH 7.4 utilizando FACS. Como resultado, las ocho variantes de HL161AN mostraron valores de MFI similares a los de HL161AN (pH 6,0: 2952, pH 7,4: 7155) (FIG. 12).

Ejemplo 5.5. Análisis del bloqueo de anticuerpos por hFcRn mediante FACS

[00235] Se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 4.5. La evaluación del bloqueo de hFcRn se realizó a 0.1 nM, 1 nM, 10 nM y 100 nM utilizando FACS. Cada anticuerpo bloqueó de una manera dependiente de la concentración y el valor de CE50 fue similar al del anticuerpo de control HL161AN (FIG. 13).

Ejemplo 5.6. Evaluación de la estabilidad

[00236] Se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 4.6. Para evaluar la estabilidad de las ocho variantes de alta concentración de HL161AN, se confirmó el cambio en la pureza de las muestras almacenadas a 40 °C durante 4 semanas mediante SDS-PAGE y SEC-HPLC. En el caso de HL161AN, la tasa de producción de agregados fue del 50 % o más cuando se almacenó durante 4 semanas, lo que también se confirmó mediante SDS-PAGE (FIG. 14). En el caso de las ocho variantes de HL161AN, se confirmó que la tasa de producción de agregados fue del 8.4 % al 25.7 %, lo que mejoró en comparación con HL161AN, y la tasa de producción de fragmentos fue del 3.5 % al 4.4 %, lo que fue similar a la de HL161AN (4.1 %) (FIG. 15).

Ejemplo 5.7. Análisis de viscosidad

[00237] El chip VROC se montó en el cuerpo principal del viscosímetro (sistema m-VROC) y, a continuación, se cargaron aproximadamente 300 µL de cada una de las muestras de control de alta concentración del estándar de referencia (RS) HL161AN y de las muestras de la variante de HL161AN en una jeringa. El chip VROC se conectó a una jeringa y, cuando se estabilizó a la

temperatura establecida de 25 °C, se midió la viscosidad repitiendo el procedimiento tres veces.

[00238] Se analizó la viscosidad de HL161AN, una sustancia de control, y las cuatro variantes de HL161AN de alta concentración, que tenían un volumen de muestra suficiente. La viscosidad del tampón (histidina 50 mM) se midió y resultó ser de 0.93 cP. La viscosidad media de las cuatro variantes de HL161AN se midió y resultó ser de 5.57 cP a 7.65 cP, que era menor que una viscosidad capaz de administración subcutánea (sc) (< 20 cP) (Tabla 14). Las viscosidades de las cuatro variantes de HL161AN de alta concentración se resumen y se muestran en la Tabla 14 a continuación.

[Tabla 14]

N° Variante	Concentración (mg/mL)	Viscosidad (cP)	Viscosidad promedio (cP)
8	161.7	5.712	5.84
		5.884	
		5.921	
12	157.9	5.539	5.57
		5.610	
		5.554	
13	158.1	7.626	7.65
		7.655	
		7.672	
19	163.2	7.294	7.27
		7.233	
		7.274	
HL161AN	152.6	5.370	5.42
		5.474	
		5.421	
Tampón de histidina 50 mM (pH 5.0)	-	0.923	0.93
		0.940	

[00239] Los resultados de la segunda evaluación in vitro de las muestras de alta concentración (150 a 170 mg/mL) de las ocho variantes de HL161AN descritas anteriormente se resumen y se muestran en la Tabla 15 a continuación.

[00240] Para las ocho variantes de HL161AN seleccionadas en la primera evaluación in vitro, se prepararon muestras de alta concentración de 150 mg/mL a 163 mg/mL, y se midieron la unión/bloqueo de FcRn y la estabilidad para seleccionar moléculas líderes. Como resultado, la variante n.º 1 y la variante n.º 12 de HL161AN, que tenían una unión/bloqueo de FcRn similar a la de HL161AN y una estabilidad mejorada, se seleccionaron como moléculas líderes (Tabla 15).

[Tabla 15]

Variante n°	Cadena ligera	Cadena pesada	Conc. Proteína (mg/ml)	Exp.	Viscosidad (cP)	Unión FACS (10nM, MFI)		Bloqueo FACS (EC ₅₀ , nM)	Estabilidad (40°C, 4semanas)	
						pH6.0	pH7.4		Δ Agregados	Δ Fragmentos
HL161AN	N25	C32	152.6	-	5.42	2952	7155	0.91	50.5	4.1
#1 (HL161ANS)	N25S	C32S	149.6	+++	-	3272	6734	0.69	8.4	3.5
#12 (HL161ANQ)	N25Q	C32S	157.9	+++	5.57	3394	7704	0.69	9.9	3.6
#2	N25S	C32Y	153.5	++	-	3407	7004	0.54	14.6	4.0
#13	N25Q	C32Y	158.1	+++	7.65	3333	7941	0.66	14.9	4.4
#8	N25S	C32SQ82E	161.7	++	5.84	3133	7055	0.60	15.8	3.7
#19	N25Q	C32SQ82E	163.2	++	7.27	3243	7912	0.62	17.9	3.9
#11	N25S	C32YQ82E	160.5	++	-	3447	6567	0.62	25.7	3.7
#22	N25Q	C32YQ82E	161.3	++	-	3025	7079	0.71	24.3	3.6

1) Expresión transitoria, > 200 mg/L: +++, < 200 mg/L: ++

2) Análisis SEC-HPLC después del almacenamiento a 40°C durante 4 semanas.

3) -: No analizado.

Ejemplo 6. Conclusión de la evaluación in vitro de las variantes del anticuerpo HL161AN

[00241] Para la evaluación in vitro de 22 variantes de HL161AN diseñadas para mejorar las propiedades físicas de HL161AN, se produjeron un total de 22 variantes de HL161AN y se midieron la afinidad/bloqueo de unión de FcRn y la estabilidad. Como resultado, las 22 variantes mostraron una bioactividad similar a la de HL161AN, y se seleccionaron primero las ocho variantes principales con estabilidad mejorada. Se prepararon las muestras de alta concentración (150 mg/ml a 163 mg/ml) de las ocho variantes seleccionadas y se realizó la evaluación de la estabilidad. Como resultado, las ocho variantes de HL161AN

mostraron una bioactividad similar a la de HL161AN y tuvieron una estabilidad mejorada en comparación con HL161AN.

[00242] La mutación N25S de la cadena ligera se añadió en las variantes HL161AN n.º 1, 2, 8 y 11, y la mutación N25Q se añadió en las variantes n.º 12, 13, 19 y 22. Sin embargo, no hubo diferencia en la estabilidad entre los dos grupos. En el caso de la cadena pesada, C32 se mutó además a S o Y, y Q82 se mutó además a S, T o E. Sin embargo, en todas las variantes, la tasa de producción de agregados se redujo al menos 2 veces en comparación con el grupo de control HL161AN. En particular, cuando C32 se mutó a S, la tasa de producción de agregados (10 % o menos) se redujo más de 5 veces en comparación con HL161AN, y la estabilidad fue la que más mejoró en comparación con otras variantes (FIG. 16). En consecuencia, la variante HL161AN N.º 1 (LC:N25S, HC:C32S; HL161ANS) y la variante N.º 12 (LC:N25Q, HC:C32S; HL161ANQ), que tenían una tasa de producción de agregados del 10 % o menos, fueron finalmente seleccionadas como moléculas líderes.

III. Evaluación del catabolismo de hIgG de variantes de anticuerpos HL161AN utilizando ratones transgénicos hFcRn

[00243] Se evaluó la eficacia del catabolismo de hIgG in vivo de tres variantes de HL161AN diseñadas para mejorar la estabilidad utilizando ratones transgénicos hFcRn (Tg) 32.

[00244] El material de prueba para la prueba del catabolismo de hIgG de variantes de anticuerpos anti-FcRn (HL161AN) utilizando ratones transgénicos hFcRn se preparó de la siguiente manera. La información de la sustancia de prueba se muestra en la Tabla 16. Las tres variantes de HL161AN, HL161ANS-IgG1LALA, HL161ANQ-IgG1LALA y HL161ANQ-IgG4S228P, se diluyeron con el tampón que se muestra en la Tabla 16 a continuación para preparar 2 mg/mL. Se preparó una dosis de 10 mL para administrar a 5 animales, dividida en 4 dosis de 2.5 mL/día y se almacenó a $\leq -60^{\circ}\text{C}$ hasta su administración.

[Tabla 16]

Variante HL161AN	Sustitución de aminoácidos		Región Fc	Concentración tampón	Almacenamiento
Variante	Caden	Caden	Región Fc	Concentración	Almacenamiento

HL161AN	a ligera	a pesada	(región)	tampón	o
HL161ANS -IgG1LALA	N25S	C32S	IgG1 (L234A/L235 A)	2 mg/mL, 50 mM histidina (pH 5.9)	≤ -60°C
HL161AN Q- IgG1LALA	N25Q	C32S	IgG1 (L234A/L235 A)	2 mg/mL, 50 mM histidina (pH 5.9)	≤ -60°C
HL161AN Q- IgG4S228 P	N25Q	C32S	IgG4 (S228P)	2 mg/mL, 50 mM histidina (pH 5.9)	≤ -60°C

[00245] Además, se preparó HL161AN, una sustancia comparativa, como se muestra en la Tabla 17. Se diluyó HL161AN con un tampón de dilución de histidina 50 mM (pH 5.9) para preparar 2 mg/ml. Se prepararon 10 ml para administrar a 5 animales, se dividieron en 4 dosis de 2.5 ml/día y se almacenaron a ≤ -60 °C hasta la administración.

[Tabla 17]

Lote N°	HL161AN/16E11/ST01
Condición de almacenamiento	almacenamiento congelado (≤ -60°C)
Concentración de preparación	22.6 mg/mL
Tampón de formulación	50 mM de histidina, 100 mM de arginina-HCl, 10 mM de metionina, 50 mM de sacarosa, 0,005 % de polisorbato 20, pH 5.0

[00246] Como sustancia de control se utilizó Globulina IV SN Iny. (IVIG), un producto disponible comercialmente de GC Biopharma. La información del producto se muestra en la Tabla 18. Específicamente, se diluyeron 0.4 mL de 50 mg/mL de Globulina IV SN Iny. a una concentración de 2 mg/mL añadiendo 9,6 mL de PBS (pH 7.4), y se dividieron en 4 dosis de 2.5 mL/día, y se almacenaron a 4°C durante hasta 4 días hasta la administración.

[Tabla 18]

Dosis	2,500 mg/50 mL (50 mg/mL)
Condición de almacenamiento	Almacenamiento refrigerado (4°C)
Fabricante	GC Biopharma

[00247] Además, el trazador se preparó mezclando 495 mg/kg de hIgG total y 5 mg/kg de biotina-hIgG. Específicamente, se preparó hIgG total a una concentración de 49.5 mg/mL para administrar 495 mg/kg de Globulina IV SN Iny. añadiendo 0.2 mL de PBS (pH 7.4) a 19.8 mL de 50 mg/mL de Globulina IV SN Iny. Además, se preparó biotina-hIgG añadiendo 267 µL de biotina 10 mM a 20 mg de Globulina IV SN Iny., seguido de una incubación a temperatura ambiente durante 30 minutos. A continuación, para eliminar la biotina libre, la muestra se transfirió a una bolsa de diálisis y se realizó la diálisis con 1X PBS (pH 7.4). La hIgG marcada con biotina se cuantificó midiendo la absorbancia a UV₂₈₀ nm (IgG E1%=14.0 a 280 nm).

Ejemplo 7. Método experimental con animales

[00248] Los ratones transgénicos (Tg) 32 mFcRn-/hFcRn (Jackson Laboratory, EE. UU.) (machos, de 5 a 10 semanas de edad) se identificaron marcando el número en la cola y colocando 5 ratones en cada jaula. Después de la inclusión, se aclimataron durante 1 a 2 semanas. Además, se administraron las sustancias de muestra dividiendo los grupos como se muestra en la Tabla 19 a continuación.

[Tabla 19]

Grupo	Concentración (mg/kg)	Vía de administración	Número de animales*
Vehicle ¹⁾	-	i.p. ²⁾	4
HL161ANS (IgG1- LALA)	20	i.p.	4
HL161ANQ (IgG1- LALA)	20	i.p.	4
HL161ANQ (IgG4 S228P)	20	i.p.	4
HL161AN	20	i.p.	4
IVIG	20	i.p.	4

* Se administraron cinco animales por grupo, incluyendo un animal en

cada grupo como repuesto.

1) Vehículo: 50 mM de histidina, pH 5.9

2) i.p.: inyección intraperitoneal

[00249] Específicamente, como trazador, se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) 495 mg/kg de hIgG total y 5 mg/kg de biotina-hIgG a una dosis de 10 mL/kg, y el tiempo de administración se fijó en 0 horas. Además, las sustancias de prueba HL161ANS (IgG1-LALA), HL161ANQ (IgG1-LALA) y HL161ANQ (IgG4 S228P), la sustancia comparativa HL161AN y la sustancia de control vehículo e IgIV se administraron por vía intraperitoneal 4 veces a una dosis de 20 mg/kg a las 24, 48, 72 y 96 horas después de la administración del trazador.

[00250] A continuación, el tiempo de administración del trazador se fijó en 0 horas y, a continuación, se extrajo sangre después de 24, 48, 72, 96, 120 y 168 horas. La sustancia de prueba, la sustancia comparativa y la sustancia de control se administraron a las 24, 48, 72 y 96 horas. En este caso, primero se extrajo sangre y, a continuación, se realizó la administración. Los ratones fueron anestesiados utilizando un dispositivo de anestesia respiratoria y, a continuación, se extrajo sangre del plexo venoso orbital utilizando un tubo capilar de microhematocrito.

[00251] Se centrifugaron aproximadamente 0,2 ml de sangre entera a 3000 rpm durante 15 minutos. A continuación, el suero obtenido se transfirió a un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml y se almacenó a ≤ -60 °C hasta su análisis.

Ejemplo 8. Confirmación del grado de catabolismo del trazador biotina-hIgG mediante análisis ELISA

[00252] El grado de catabolismo del trazador de biotina-hIgG en el cuerpo se confirmó utilizando el suero obtenido por el método anterior.

[00253] Específicamente, solución de dilución/tampón de bloqueo (diluyente de ensayo (AD), 1% BSA en 1XPBS, pH 7,4): se disolvieron 10 g de Probumin® en 900 mL de 1X PBS (pH 7,4), se ajustaron a un volumen final de 1 L, se filtraron a través de un filtro de 0,2 μ m y luego se almacenaron a 4 °C. Además, la solución madre estándar (500 ng/mL de biotina-hIgG) se preparó mezclando 10 μ L de

biotina-hIgG (4 mg/mL) con 990 μ L de PBS para obtener 40 μ g/mL. Posteriormente, se mezclaron 750 μ L de la solución de dilución con 250 μ L de 40 μ g/mL de biotina-hIgG para preparar 10 μ g/mL. Se prepararon 500 ng/mL de la solución madre estándar mezclando 50 μ L de 10 μ g/mL de biotina-hIgG con 950 μ L de la solución de dilución y luego se dividieron en alícuotas de 50 μ L. La solución madre estándar alícuota se almacenó a -80°C. Además, se utilizó la avidina neutra diluyendo 10 μ L de 2 mg/mL de avidina neutra con 10 mL de PBS 1X a 2 μ g/mL.

[00254] A continuación, las muestras de los grupos de vehículo e IgIV se diluyeron 1:10 000 utilizando una solución de dilución para preparar muestras de análisis. A excepción del grupo HL161ANS (IgG1-LALA), las muestras de 24, 48 y 72 h se diluyeron 1:10 000, y las muestras de 96, 120 y 168 h se diluyeron 1:1 000. En el caso del grupo HL161ANS (IgG1-LALA), solo la muestra de 168 h se diluyó 1:1 000, y todas las muestras en los otros puntos temporales se diluyeron 1:10 000. Las muestras diluidas se cargaron por duplicado a 100 μ L por pocillo y se incubaron a temperatura ambiente durante 2 horas.

[00255] La concentración de biotina-hIgG en la sangre administrada a las 0 horas se midió a las 24, 48, 72, 96, 120 y 168 horas después de la administración de HL161ANS (IgG1-LALA), HL161ANQ (IgG1-LALA), HL161ANQ (IgG4S228P), HL161AN e IgIV a 20 mg/kg mediante ELISA. Como resultado, los otros grupos de prueba mostraron una disminución significativa de biotina-hIgG a lo largo del tiempo en comparación con el grupo de administración de vehículo e IgIV. Por otro lado, no hubo una diferencia significativa entre las tres variantes de HL161AN y HL161AN. Entre las tres variantes, HL161ANQ (LC:N25Q, HC:C32S)-IgG1-LALA mostró un efecto relativamente alto sobre el catabolismo de biotina-hIgG. Sin embargo, no hubo significación estadística y por lo tanto se determinó que era un efecto similar (Tabla 20, Tabla 21 y FIG. 17).

[00256] Las concentraciones de biotina-hIgG después de la administración de las variantes HL161AN a 20 mg/kg se resumen y se muestran en la Tabla 20 a continuación.

[Tabla 20]

	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	168 hrs.
Vehículo	52.1±2.5	37.3±1.9	33.4±3.8	31.2±5.3	25.2±2.3	19.0±0.6
HL161ANS (IgG1-LALA)	46.5±8.2	21.2±9.8	11.0±8.2	5.3±4.4	2.3±2.0	1.4±1.4
HL161ANQ (IgG1-LALA)	60.3±16.1	19.1±4.2	7.7±2.1	2.5±0.5	0.9±0.1	0.4±0.1
HL161ANQ (IgG4S228P)	47.3±15.3	21.2±4.2	7.7±2.2	2.6±0.8	1.2±0.3	0.7±0.1
HL161AN	37.7±8.0	23.3±6.5	10.7±4.4	3.9±1.9	1.7±0.8	0.8±0.3
IVIG	51.2±15.5	38.2±4.6	32.0±3.4	23.9±4.3	26.5±5.0	21.7±4.7

[00257] Los resultados del catabolismo de biotina-hIgG (% de 24 horas después de la administración del trazador) de las variantes HL161AN en ratones Tg32 se resumen y se muestran en la Tabla 21 a continuación.

[Tabla 21]

	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	168 hrs.
Vehículo	100.0±0.0	71.8±3.6	64.2±7.7	60.2±11.4	48.8±6.2	36.6±2.5
HL161ANS (IgG1-LALA)	100.0±0.0	48.8±29.8	26.4±23.8	13.0±12.2	5.7±5.6	3.5±3.9
HL161ANQ (IgG1-LALA)	100.0±0.0	32.0±1.7	12.9±2.0	4.3±0.8	1.5±0.3	0.6±0.2
HL161ANQ (IgG4S228P)	100.0±0.0	46.8±10.2	17.9±9.5	6.2±3.5	2.7±1.4	1.6±0.7
HL161AN	100.0±0.0	63.8±19.2	29.6±12.8	10.9±5.9	4.6±2.5	2.1±1.0
IVIG	100.0±0.0	79.4±20.6	68.0±23.3	48.8±10.2	53.6±8.2	43.9±7.4

Ejemplo 9. Cálculo de la vida media del trazador de biotina-IgG mediante análisis farmacocinético (PK)

[00258] Los resultados del análisis cuantitativo de ELISA de biotina-hIgG se utilizaron para calcular la vida media del trazador después de la administración de cada sustancia de prueba con BA calc (2007, Corea). Específicamente, utilizando los resultados del análisis de ELISA, se calcularon las vidas medias de 24 horas a

120 horas después de la administración del trazador para las tres variantes de HL161AN (Tabla 16), la sustancia comparativa y la sustancia de control.

[00259] Como resultado, como se muestra en la Tabla 22, las semividas fueron 22.7 ± 9.0 horas para HL161ANS (IgG1-LALA), 15.9 ± 0.9 horas para HL161ANQ (IgG1-LALA) y 17.8 ± 2.6 horas para HL161ANQ (IgG4S228P). La semivida de la sustancia comparativa HL161AN fue 20.6 ± 3.6 horas, que se confirmó que era equivalente a las de las tres variantes de HL161AN. Además, las semividas del vehículo y de la IgIV fueron 108.2 ± 29.0 horas y 98.0 ± 16.8 horas, respectivamente, que se confirmó que eran similares. Los resultados del análisis de la vida media de la biotina-hIgG después de la administración de las variantes HL161AN en ratones Tg se resumen y se muestran en la Tabla 22 a continuación.

[Tabla 22]

Nombr del grupo	$T_{1/2}$ (hr.)
Vehículo	108.3 ± 29.0
HL161ANS (IgG1-LALA)	22.7 ± 9.0
HL161ANQ (IgG1-LALA)	15.9 ± 0.9
HL161ANQ (IgG4D228P)	17.8 ± 2.6
HL161AN	20.6 ± 3.6
IVIG	98.0 ± 16.8

Ejemplo 10. Catabolismo de hIgG de variantes del anticuerpo HL161AN en ratones transgénicos hFcRn

[00260] El efecto del catabolismo de hIgG se confirmó después de la administración a ratones Tg32 a 20 mg/kg para las tres variantes de HL161AN diseñadas para aumentar la estabilidad de HL161AN. Como resultado, se confirmó que HL161ANS (IgG1-LALA), HL161ANQ (IgG1-LALA) y HL161ANQ (IgG4S228P) tenían el efecto del catabolismo de hIgG equivalente al de la sustancia comparativa HL161AN.

[00261] En conclusión, se confirmó que HL161ANS (cadena ligera: N32S, cadena pesada: C32S) y HL161ANQ (cadena ligera: N32Q, cadena pesada: C32S), que son sustancias en las que se sustituyen dos aminoácidos para aumentar la estabilidad entre los dominios variables de HL161AN, tuvieron un

efecto de catabolismo de IgG in vivo similar al de la molécula original HL161AN. Es decir, se confirmó que las tres variantes de HL161AN diseñadas para aumentar la estabilidad no afectaron la eficacia in vivo en comparación con la HL161AN existente.

Ejemplo 11. Conclusión del catabolismo de hIgG mediante la administración de variantes del anticuerpo anti-FcRn (HL161AN) en ratones transgénicos hFcRn

[00262] Para evaluar el efecto de HL161AN y las variantes de HL161AN (HL161ANS y HL161ANQ) sobre el catabolismo in vivo de biotina-hIgG, se recogió sangre por tiempo después de la administración a ratones Tg32 a 20 mg/kg, y se confirmó la concentración de biotina-hIgG en la sangre.

[00263] Como resultado, en el caso de biotina-hIgG, se confirmó un efecto de catabolismo de biotina-hIgG similar para las tres sustancias administradas. Todas las sustancias de prueba (HL161AN, HL161ANS y HL161ANQ) redujeron la concentración de biotina-hIgG en un 90 % o más dentro de las 120 horas posteriores a la administración en comparación con el grupo de control de IgIV.

[00264] En conclusión, se confirmó que el efecto de catabolismo de hIgG de HL161ANS y HL161ANQ no fue significativamente diferente del de HL161AN a través de la prueba de catabolismo de hIgG.

Ejemplo 12: Comparación de los anticuerpos HL161ANS y Batoclimab

[00265] En este estudio comparativo en monos, se comparó la variante HL161ANS (también denominada IMVT-1402) con otro anticuerpo anti-FcRn, Batoclimab (HL161BKN, véase, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente internacional n.º WO/2015/167293).

[00266] Se administró por vía intravenosa a 20 monos en cuatro grupos 50 mg/kg de batoclimab, 5 mg/kg de HL161ANS, 50 mg/kg de HL161ANS o placebo. Se midieron los niveles de IgG, albúmina y lipoproteína de baja densidad (LDL) y colesterol en los puntos temporales indicados. Se sabe que los monos cinomolgus son un indicador farmacodinámico fiable de los efectos mediados por

anti-FcRn sobre la IgG (véase, por ejemplo, Lledo-García, et al., UCB Pharma, 2022).

[00267] En dosis comparables, la reducción de la IgG fue casi idéntica para batoclimab y HL161ANS (FIG. 18). El efecto de reducción de la IgG fue dependiente de la dosis. HL161ANS y placebo demostraron efectos similares sobre la albúmina, LDL y colesterol (FIG. 19A-19C, respectivamente). Por lo tanto, no hubo un efecto sustancial de HL161ANS sobre los niveles de albúmina, LDL o colesterol.

Ejemplo 13: Un estudio farmacológico exploratorio intravenoso de 4 semanas seguido de un período de recuperación de 4 semanas en monos cynomolgus

[00268] El objetivo del estudio fue determinar la farmacología, la toxicidad y el perfil toxicocinético (TK) del elemento de prueba, HL161ANS, después de la administración de una inyección intravenosa una vez por semana al mono cynomolgus durante 4 semanas (los días 1, 8, 15 y 22) y evaluar la persistencia, el inicio retardado o la reversibilidad de cualquier cambio después de un período de recuperación de 4 semanas.

[00269] Los elementos de prueba, control positivo y control/vehículo se administraron a grupos de monos una vez por semana mediante administración de inyección intravenosa (durante aproximadamente 60 segundos) los días 1, 8, 15 y 22 como se describe en la Tabla 23 a continuación:

[Tabla 23]

Números de grupos	Descripción del grupo	Nivel de dosis (mg/kg/día)	Concentración de dosis (mg/mL)	Volumen de dosis (mL/kg)	Número de animales	
					Machos	Hembras
1	Control/Vehículo ^a	0	0	2	1	2
2	Control positivo ^b	50	25	2	2	1
3	Dosis baja	5	2.5	2	3	4
4	Dosis alta	50	25	2	3	4

a: A los animales del grupo de control/vehículo se les administró el elemento de control/vehículo (20 mM de histidina, 200 mM de arginina, pH 6.0, 2 % p/v de PS-20)).

b: A los animales del grupo 2 se les administró únicamente el elemento de control positivo.

[00270] Después de completar el último ciclo de dosificación semanal, todos los animales fueron observados durante 4 semanas y luego los animales de los Grupos 1, 3 y 4 fueron sacrificados y sometidos a un examen de necropsia el día 57.

[00271] Los parámetros monitoreados durante este estudio incluyeron mortalidad, observaciones clínicas y pesos corporales. Además, se evaluaron parámetros de patología clínica (hematología, coagulación, química clínica y análisis de orina). Se realizó una toma de muestras de sangre para evaluación toxicocinética, ApoB, IgG y ADA. Se realizó una necropsia y se recolectaron tejidos para un posible examen histopatológico.

[00272] No se observaron signos clínicos relacionados con la mortalidad o HL161ANS.

[00273] No se observaron efectos relacionados con el elemento de prueba en los pesos corporales, la hematología, la coagulación, la química clínica y el análisis de orina.

[00274] Se observó moteado esplénico a 5 y 50 mg/kg de HL161ANS y una mayor incidencia de timo pequeño a 50 mg/kg. Como no se realizó ningún examen microscópico, no se pudo determinar la importancia toxicológica de estos hallazgos.

[00275] En conclusión, la administración intravenosa una vez por semana durante cuatro semanas (días 1, 8, 15 y 22) de HL161ANS al mono cynomolgus a 5 y 50 mg/kg fue bien tolerada.

Ejemplo 14: Estudio de toxicidad y toxicocinética de 6 semanas de inyección subcutánea y/o intravenosa con HL161ANS en monos cinomolgus con una fase de recuperación de 9 semanas

[00276] El propósito de este estudio fue evaluar la toxicidad y determinar la toxicocinética de HL161ANS cuando se administra dos veces por semana mediante inyección subcutánea y/o intravenosa (bolo lento) a monos cynomolgus durante al menos 6 semanas (un total de 13 intervalos de dosis) y evaluar la

reversibilidad o persistencia de cualquier efecto después de una fase de recuperación de 9 semanas.

[00277] Se asignaron monos cynomolgus machos y hembras a seis grupos y se administraron dosis como se indica en la Tabla 24. Se administró la dosis a los animales mediante inyección subcutánea (SC) (Grupos 1 a 4) y/o inyección intravenosa (IV) (bolo lento) (Grupos 1, 5 y 6) los días 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39 y 43 de la fase de dosificación a un volumen de 1.3 ml/kg/dosis. El artículo/diluyente de control del vehículo fue el tampón de formulación HL161ANS. Además, se administró KLH a cada animal una vez el día 14 de la fase de dosificación y una vez el día 28 de la fase de recuperación mediante inyección subcutánea a un volumen de 1 ml/dosis.

[Tabla 24]

Grupo ^a	Nivel de dosis ^b (mg/kg/dosis)	Concentración de dosis ^b (mg/mL)	Número de animales	
			Machos	Hembras
1 (Control – SC e IV)	0	0	5	5
2 (Bajo - SC)	50	38.5	3	3
3 (Medio - SC)	100	76.9	3	3
4 (Alto - SC)	198.4	152.6	5	5
5 (Bajo - IV)	50	38.5	3	3
6 (Alto – IV)	198.4	152.6	5	5

a Al grupo 1 se le administró únicamente el artículo de control del vehículo.

b Se administró a los animales un volumen de 1.3 ml/kg/dosis.

c Se designaron tres animales por sexo y grupo como animales terminales, y dos animales por sexo y grupo de los grupos 1, 4 y 6 como animales en recuperación.

[00278] La evaluación de la toxicidad se basó en la mortalidad, las observaciones clínicas, los pesos corporales, el consumo de alimentos cualitativos, las observaciones oftálmicas, las mediciones electrocardiográficas (ECG), las observaciones dérmicas, las observaciones neuroconductuales, la evaluación de la frecuencia respiratoria y la patología clínica y anatómica. Se recogieron muestras de sangre para las evaluaciones toxicocinéticas, de ADA e inmunotoxicológicas.

[00279] Los parámetros toxicocinéticos fueron generalmente similares en monos machos y hembras (dentro de 2 veces). Con la dosificación SC, las

exposiciones sistémicas de HL161ANS, como lo indican los valores de $C_{\max}$ y AUC0-72, aumentaron con el nivel de dosis. Las evaluaciones de AUC0-72 son limitadas en la medida en que este parámetro no pudo determinarse el día 43 en ninguno de los animales, excepto en los animales de recuperación en el grupo de 198.4 mg/kg/dosis, ya que el sacrificio terminal ocurrió el día 44. Los aumentos fueron generalmente mayores que proporcionales entre dosis de 50.0 y 198.4 mg/kg/dosis. Después de la dosificación SC repetida dos veces por semana, no se observó acumulación sérica en el grupo de 50.0 mg/kg/dosis desde el día 1 al día 22 según las AR medias de sexo combinado, lo que refleja valores en dos animales hembra individuales en el grupo que fueron considerablemente menores a 1.0. La acumulación ocurrió a dosis más altas, y el grado de acumulación aumentó con la dosis. Las razones de acumulación de los valores de $C_{\max}$ y AUC0-72 fueron de 1.65 a 1.86 en el grupo de 100,0 mg/kg/dosis (del día 1 al día 22) y de 1.83 a 2,88 en el grupo de 198.4 mg/kg/dosis (del día 1 al día 22 y día 43). Con la administración intravenosa, los valores de $C_{\max}$ y AUC0-72 de HL161ANS aumentaron con el nivel de dosis. Los aumentos en los valores de AUC0-72 fueron mayores que proporcionales entre dosis de 50,0 y 198,4 mg/kg/dosis. Las evaluaciones de proporcionalidad de la dosis para $C_{\max}$ después de la administración intravenosa en bolo indicaron un aumento aproximadamente proporcional con la dosis el día 1, pero fueron difíciles de interpretar los días 22 y 43 debido a los efectos contribuyentes de la acumulación. Después de la administración intravenosa repetida dos veces por semana, la acumulación sérica, basada en $C_{\max}$, fue leve (50.0 mg/kg/dosis) a modesta (198.4 mg/kg/dosis), con AR de 1.11 a 1.23 y de 1.40 a 1.63, respectivamente. En el caso del AUC0-72, las exposiciones medias combinadas por sexo en el grupo de 50.0 mg/kg/dosis disminuyeron a la mitad desde el día 1 hasta el día 22 y se mantuvieron iguales hasta el día 43, con AR de aproximadamente 0.460; esto refleja AR muy bajas en cinco de los seis animales de este grupo. Se observaron aumentos modestos en el AUC0-72 en el grupo de 198.4 mg/kg/dosis IV, con AR de aproximadamente 1.5. Se observaron títulos positivos de anticuerpos antidrogas (ADA) en 35 de 38 (92.1 %) animales tratados con HL161ANS (1 animal a 100 mg/kg/dosis SC y 2 animales a 198.4

mg/kg/dosis IV fueron negativos para los títulos de ADA. La ADA inducida por HL161ANS puede haber afectado las tasas de acumulación en los días 22 y 43, ya que las AR tendieron a disminuir con el aumento de los títulos de ADA; el grupo de 50 mg/kg/dosis se vio más afectado que otros grupos.

[00280] El día 30 de la fase de dosificación, una hembra a la que se le administró 100 mg/kg/dosis SC fue sacrificada debido a una condición corporal delgada (pérdida de peso corporal de 0.3 kg), una puntuación baja de condición corporal, ojos hundidos, disminución de la turgencia de la piel, heces líquidas y una temperatura corporal baja (36.4 °C). El animal fue examinado y tratado previamente por hinchazón y una laceración en el pie izquierdo el día 23 de la fase de dosificación; sin embargo, la condición de este animal empeoró. Los cambios patológicos clínicos relacionados con HL161ANS consistieron en concentraciones de proteína total y albúmina leves a moderadamente reducidas. Estos cambios fueron similares a los observados en los animales que sobrevivieron al sacrificio programado y probablemente fueron exacerbados por la respuesta inflamatoria y las observaciones clínicas de heces líquidas.

[00281] Las observaciones macroscópicas incluyeron una forma anormal y compresión del cerebro, que se correlacionó microscópicamente con una dilatación mínima del tronco encefálico, que se consideró incidental. La celularidad mínimamente aumentada de los precursores mieloides en la médula ósea esternal podría haberse correlacionado con la respuesta inflamatoria relacionada con la laceración en el dedo. La causa de la condición moribunda fue indeterminada en base a observaciones microscópicas, pero las heces líquidas continuas y la herida en el dedo que llevaron a la disminución de la movilidad y el consumo de alimentos habrían contribuido a la condición moribunda de este animal. En base a las observaciones clínicas disponibles y los resultados de patología clínica y anatómica, esta mortalidad no se asoció con HL161ANS. No se observaron observaciones clínicas relacionadas con HL161ANS; observaciones oftálmicas; alteraciones del peso corporal o del consumo de alimentos; efectos en la frecuencia respiratoria; observaciones dérmicas; efectos en el ECG; efectos en la coagulación, análisis de orina o títulos de IgM e IgA; efectos en los niveles de CH50; efectos en la inmunidad y

subconjuntos de linfocitos; diferencias en el peso de los órganos; o se observaron hallazgos macroscópicos.

[00282] Se observó un aumento en los títulos de IgM antes de la dosis del día 22 de la fase de dosificación, en comparación con antes de la dosis del día 1 de la fase de dosificación, en la mayoría de los controles y en los machos y hembras a los que se les administró ≥ 50 mg/kg/dosis de HL161ANS. Se observó una disminución posterior en los títulos de IgM antes de la dosis y 1344 horas después de la dosis del día 43 de la fase de dosificación en las hembras a las que se les administró ≥ 50 mg/kg/dosis de HL161ANS, con valores que permanecieron comparables a los de los controles. En los machos tratados con HL161ANS, los títulos de IgM antes de la dosis del día 43 de la fase de dosificación permanecieron comparables a antes de la dosis del día 22 de la fase de dosificación, con una disminución posterior observada a las 1344 horas después de la dosis del día 43 de la fase de dosificación. Se observó una disminución en las concentraciones de IgG antes de la dosis del día 4 de la fase de dosificación, en comparación con la dosis antes del día 1 de la fase de dosificación, en todos los animales a los que se les administró ≥ 50 mg/kg/dosis de HL161ANS. El cambio porcentual de las concentraciones medias de IgG para los grupos a los que se les administró ≥ 50 mg/kg/dosis fue aproximadamente del 48 al 76 % por debajo de los valores basales en el día 43 de la fase de dosificación, en consonancia con la farmacología esperada. Las concentraciones medias de IgG para cada grupo aumentaron a partir del día 15 de la fase de recuperación y volvieron a los niveles basales al final de la fase de recuperación. Se observaron mayores concentraciones de IgG, en comparación con la dosis antes del día 1 de la fase de dosificación, en dos hembras a las que se les administró 198,4 mg/kg/dosis SC a partir del día 15 de la fase de dosificación después de la disminución observada en el día 4 de la fase de dosificación. Las concentraciones de IgG se mantuvieron altas hasta el día 43 de la fase de dosificación en ambos animales, seguidas de una disminución el día 1 de la fase de recuperación. Se observó un aumento de las concentraciones de IgG, en comparación con la dosis previa al día 1 de la fase de dosificación, en un macho al que se le administró 198.4 mg/kg/dosis por vía subcutánea a partir del día 15

de la fase de dosificación, tras la disminución observada el día 4 de la fase de dosificación. Las concentraciones de IgG se mantuvieron altas hasta el día 32 de la fase de dosificación, seguidas de una disminución el día 36 de la fase de dosificación. Las concentraciones de IgG disminuyeron por debajo del valor inicial hasta el día 50 de la fase de recuperación. El aumento de la concentración de IgG en un animal puede estar relacionado con la inflamación vascular observada en varios tejidos en el examen microscópico. Estas variaciones con respecto a las concentraciones medias de IgG del grupo tienen una relación desconocida con los títulos de HL161ANS y/o ADA.

[00283] Se observaron niveles de C3a marginalmente aumentados el día 43 de la fase de dosificación en animales a los que se les administró 198.4 mg/kg/dosis SC o IV, en comparación con los valores de control y de referencia, y se consideraron potencialmente relacionados con HL161ANS debido a la consistencia entre sexos y la pequeña magnitud del cambio. C3a es un efector en el sistema del complemento y tiene varias funciones estimuladoras en el sistema inmunológico. Los efectos relacionados con HL161ANS en los resultados de las pruebas de química clínica consistieron en una concentración de proteína total mínima a levemente reducida el día 43 de la fase de dosificación en animales a los que se les administró hasta 198.4 mg/kg/dosis SC o IV. Se observó una concentración de albúmina mínima a moderadamente reducida los días 16 y/o 43 de la fase de dosificación en animales a los que se les administró >50 mg/kg/dosis SC, machos a los que se les administró >50 mg/kg/dosis IV y hembras a las que se les administró 198.4 mg/kg/dosis IV. Se observó una concentración mínimamente reducida de globulina el día 43 de la fase de dosificación en los machos a los que se les administró 50 o 100 mg/kg/dosis SC o >50 mg/kg/dosis IV y en las hembras a las que se les administró 50 mg/kg/dosis SC o IV. Los machos a los que se les administró 50 mg/kg/dosis IV mostraron evidencia de reversibilidad del efecto de la albúmina el día 43 de la fase de dosificación, y todos los demás efectos en los resultados de las pruebas de química clínica para los animales a los que se les administró 198.4 mg/kg/dosis SC o IV mostraron evidencia de reversibilidad el día 22 o 50 de la fase de recuperación.

[00284] Un efecto relacionado con HL161ANS en los resultados de la prueba hematológica fue de pequeña magnitud y consistió en un recuento absoluto de neutrófilos mínimamente disminuido el día 43 de la fase de dosificación en animales a los que se les administró 198.4 mg/kg/dosis IV. Estos efectos mostraron evidencia de reversibilidad el día 22 o 50 de la fase de recuperación, excepto en un macho al que se le administró 198,4 mg/kg/dosis IV. Se observó que una hembra a la que se le administró 198.4 mg/kg/dosis SC tenía un recuento absoluto de monocitos mínimamente aumentado el día 43 de la fase de dosificación, lo que se correlacionó con hallazgos microscópicos de inflamación vascular e infiltrados de células mononucleares. En el sacrificio terminal, se observó el hallazgo microscópico relacionado con HL161ANS de inflamación vascular probablemente asociada con daño mediado por complejos inmunes en el pulmón, hígado, vesícula biliar, riñón, estómago, intestino delgado y grueso, lengua, corazón, útero y sitio de inyección subcutánea E de una hembra a la que se le administró 198.4 mg/kg/dosis SC. Los hallazgos adicionales en este animal incluyeron hematopoyesis extramedular mínima y una ligera hipertrofia de las células de Kupffer del hígado y una hipertrofia mínima de la túnica media en los vasos pulmonares. No se observaron hallazgos relacionados con HL161ANS en el sacrificio de recuperación.

[00285] En conclusión, a monos cynomolgus machos y hembras se les administró un artículo de control de vehículo/diluyente o 50, 100, 198.4 mg/kg/dosis de HL161ANS mediante inyección SC y/o IV dos veces por semana durante 6 semanas. Se observaron niveles aumentados de C3A el día 43 de la fase de dosificación en animales a los que se les administró 198.4 mg/kg/dosis SC o IV. Este hallazgo fue reversible durante la fase de recuperación. Los cambios en la patología clínica incluyeron una concentración de proteína total levemente reducida en ambos sexos a los que se les administró hasta 198.4 mg/kg/dosis SC o IV; una concentración de albúmina mínima a moderadamente reducida en ambos sexos a los que se les administró hasta 198.4 mg/kg/dosis SC, a los machos se les administró ≥ 50 mg/kg/dosis IV y a las hembras se les administró 198,4 mg/kg/dosis IV; concentración de globulina mínimamente reducida en machos a los que se les administró 50 o 100 mg/kg/dosis SC o ≥ 50

mg/kg/dosis IV y en hembras a las que se les administró 50 mg/kg/dosis SC o IV; y recuento absoluto de neutrófilos mínimamente reducido en ambos sexos a los que se les administró 198.4 mg/kg/dosis IV. Estos hallazgos fueron reversibles durante la fase de recuperación.

[00286] Los hallazgos microscópicos relacionados con HL161ANS incluyeron inflamación vascular en el pulmón, hígado, vesícula biliar, riñón, estómago, intestino delgado y grueso, lengua, corazón, útero y el sitio de inyección subcutánea E de una hembra a la que se le administró 198,4 mg/kg/dosis SC. No se observaron hallazgos relacionados con HL161ANS en el sacrificio de recuperación. Debido a la naturaleza sistémica de los hallazgos microscópicos de los animales a los que se les administró 198.4 mg/kg/dosis SC, los efectos de esta dosis se consideraron adversos. Debido a la leve gravedad de los hallazgos y la falta de un impacto en la salud y el bienestar de los animales a los que se les administró 100 mg/kg/dosis SC o 198.4 mg/kg/dosis IV, los efectos de estas dosis se consideraron no adversos. Por lo tanto, el nivel sin efecto adverso observado (NOAEL) es 100 mg/kg/dosis mediante inyección SC y 198.4 mg/kg/dosis mediante inyección IV. El nivel de dosis SC correspondió a un valor de concentración máxima media observada (C_{max}) de 964 mg/L el día 43 de la fase de dosificación y un valor de área bajo la curva de concentración-tiempo durante un intervalo de dosificación (AUC_{tau} o AUC₀₋₇₂) de 2290 mg/L el día 22 de la fase de dosificación (se debe tener en cuenta que no se pudo calcular el AUC₀₋₇₂ el día 43 ya que el sacrificio terminal fue un día después de la dosis del día 43)). El nivel de dosis IV correspondió a una concentración máxima media observada (C_{max}) y un área bajo la curva de concentración-tiempo durante un intervalo de dosificación (AUC_{tau} o AUC₀₋₇₂) de 7100 mg/L y 10800 mg x día/L en el día 43 de la fase de dosificación.

Ejemplo 15: Estudio de toxicidad, toxicocinética y farmacodinámica de determinación del rango de dosis de inyección subcutánea y/o intravenosa con HL161ANS en monos cinomolgus

[00287] El propósito de este estudio fue evaluar la toxicidad y determinar la toxicocinética (TK) y la farmacodinámica (PD) de HL161ANS cuando se administra dos veces por semana mediante inyección subcutánea (SC) o una

vez por semana mediante inyección intravenosa (IV, bolo lento) a monos cinomolgus durante al menos 6 semanas.

[00288] Se asignaron monos cinomolgus machos y hembras a seis grupos, y se administraron dosis como se indica en la siguiente tabla. Los animales recibieron la dosis mediante inyección intravenosa y/o subcutánea una o dos veces por semana a un volumen de 1 ml/kg/dosis. El artículo de control del vehículo/diluyente fue el tampón de formulación HL161ANS.

Grupo	Nivel de dosis ^b	Concentración de dosis ^b	Número de Animales	
	(mg/kg/dosis)	(mg/mL)	Machos	Hembras
1 (Control-IV y SC) ^a	0	0	1	1
2 (Bajo- IV)	3	3	2	2
3 (Medio-Bajo -IV)	10	10	2	2
4 (Medio-Alto -IV)	30	30	2	2
5 (Alto - IV)	100	100	3	3
6 (Alto - SC)	100	100	2	2

IV = Intravenosa; SC = Subcutánea

^a Al grupo 1 se le administró únicamente el artículo de control del vehículo. Los días 1, 8, 15, 22, 29 y 36, la administración subcutánea fue seguida por la administración intravenosa. Los días 4, 11, 18, 25, 32 y 39, solo la administración subcutánea.

^b A los animales se les administró un volumen de 1 ml/kg/dosis.

[00289] La evaluación de la toxicidad se basó en la mortalidad, las observaciones clínicas, el peso corporal, el consumo de alimentos, las observaciones dérmicas, la inmunotoxicología y la patología clínica y anatómica. Se recogieron muestras de sangre para la evaluación toxicocinética y el análisis de anticuerpos antidrogas.

[00290] No se produjeron muertes relacionadas con HL161ANS y no se observaron observaciones clínicas o dérmicas relacionadas con HL161ANS, alteraciones del peso corporal, aumento de peso corporal o consumo de alimentos, diferencias de peso de los órganos, observaciones macroscópicas o hallazgos microscópicos.

[00291] Los efectos de la química clínica relacionados con HL161ANS observados en los animales a los que se les administró 100 mg/kg/dosis IV o SC se limitaron a una concentración de albúmina mínima o levemente reducida

observada en animales individuales. La disminución de la albúmina se observó de manera más consistente en los días 15 o 22 a 50 para los animales a los que se les administró 100 mg/kg/dosis SC, mientras que se observó principalmente en los días 36 y 43 de la fase de dosificación para los animales a los que se les administró 100 mg/kg/dosis IV. No se conocía un mecanismo para la disminución de la albúmina.

[00292] En conclusión, se administró a monos cynomolgus machos y hembras una formulación tampón de HL161ANS (vehículo de control) mediante inyección subcutánea dos veces por semana e inyección intravenosa una vez por semana o 3, 10 o 100 mg/kg/dosis de HL161ANS mediante inyección intravenosa una vez por semana o 100 mg/kg/dosis de HL161ANS mediante inyección subcutánea dos veces por semana. HL161ANS fue bien tolerado en todos los niveles de dosis y todas las vías de dosificación. No se produjeron muertes relacionadas con HL161ANS y no se observaron observaciones clínicas relacionadas con HL161ANS, alteraciones en el peso corporal, aumento de peso corporal o consumo de alimentos, diferencias en el peso de los órganos, observaciones macroscópicas o hallazgos microscópicos. No se observaron efectos patológicos clínicos relacionados con HL161ANS en animales a los que se les administró hasta 100 mg/kg/dosis IV. Los efectos patológicos clínicos relacionados con HL161ANS observados en animales a los que se les administró una dosis de 100 mg/kg por vía subcutánea se limitaron a una concentración de albúmina mínima o levemente reducida desde el día 15 o 22 hasta el día 50. Con base en estos hallazgos, 100 mg/kg/dosis de HL161ANS, la dosis más alta administrada, por inyección intravenosa o subcutánea se considera la dosis máxima tolerada (MTD).

Ejemplo 16: Un estudio de fase 1 para evaluar la seguridad, tolerabilidad, farmacocinética y farmacodinamia de HL161ANS en participantes sanos

[00293] Este ejemplo describe un estudio de fase 1, aleatorizado, controlado con placebo, doble ciego, secuencial de grupos paralelos para investigar la seguridad, tolerabilidad, farmacocinética (PK) y farmacodinamia (PD) de dosis únicas y múltiples ascendentes de HL161ANS en participantes adultos

masculinos sanos y participantes adultas femeninas sin potencial fértil (NCBP).

Los participantes participan en 1 cohorte de dosificación.

[00294] Hay 6 cohortes de dosis única ascendente (SAD) (100, 300, 600 y 1200 mg intravenosos [IV]; y 300 y 600 mg subcutáneos [SC]). Hay 2 cohortes de dosis múltiple ascendente (MAD) (300 y 600 mg SC una vez a la semana [QW]) y 2 cohortes MAD opcionales (150 y 450 mg SC QW). Cada cohorte MAD debe recibir 4 administraciones semanales de HL161ANS o placebo. Cada cohorte debe dosificar a 2 sujetos centinela (uno activo y uno placebo).

[00295] Las cohortes SAD consisten cada una de 6 y 2 participantes en HL161ANS y placebo, respectivamente, y las 4 cohortes MAD consisten cada una de 10 y 2 participantes en HL161ANS y placebo, respectivamente. Por lo tanto, el estudio contará con un total de hasta 96 participantes (76 en HL161ANS y 20 en placebo).

[00296] Las dosis seleccionadas no deben exceder las dosis fijas de 1530 mg IV para SAD y 800 mg SC para MAD.

[00297] Los participantes deben ser seleccionados para evaluar la elegibilidad para la aleatorización en el estudio. Para las cohortes de SAD, los participantes deben ser aleatorizados en 6 cohortes de dosis secuenciales, con 8 participantes por cohorte. Para cada cohorte de SAD, 2 participantes deben ser aleatorizados 1:1 para recibir HL161ANS o placebo para la dosificación centinela, luego los 6 participantes restantes deben ser aleatorizados 5:1 para recibir HL161ANS o placebo, si HL161ANS es bien tolerado en los respectivos participantes centinela.

[00298] Para las cohortes MAD, los participantes deben ser aleatorizados en hasta 4 cohortes secuenciales (2 planificadas y 2 opcionales), con 12 participantes por cohorte. Para cada cohorte MAD, 2 participantes deben ser aleatorizados 1:1 para recibir HL161ANS o placebo para la dosificación centinela, luego los 10 participantes restantes deben ser aleatorizados 9:1 para recibir HL161ANS o placebo, si HL161ANS es bien tolerado en los respectivos participantes centinela.

[00299] Los objetivos y puntos finales se muestran en la Tabla 25

[Tabla 25]

OBJETIVOS	CRITERIOS DE VALORACIÓN
Primarios	
Evaluar la seguridad y tolerabilidad de HL161ANS después de dosis únicas y múltiples en participantes sanos	Eventos adversos (AE), Eventos adversos graves (SAE) y Eventos Adversos que conllevan a la interrupción del tratamiento
Secundarios	
Evaluar la farmacocinética de HL161ANS después de dosis únicas y múltiples en participantes sanos	Perfil farmacocinético de HL161ANS, evaluado a través de concentraciones séricas de HL161ANS a lo largo del tiempo
Evaluar la PD de HL161ANS después de dosis únicas y múltiples en participantes sanos	Perfil de PD de HL161ANS, evaluado a través de concentraciones séricas de IgG total y subclases de IgG a lo largo del tiempo
Evaluar la inmunogenicidad de HL161ANS después de dosis únicas y múltiples en participantes sanos	Número de participantes con ADA y nAb positivos emergentes del tratamiento
Exploratorio	
Evaluar el efecto de HL161ANS sobre marcadores seleccionados de inflamación y estado inmunológico en participantes sanos	Cambios con respecto al valor inicial en los marcadores de inflamación y estado inmunológico: • Complejos inmunes • Concentraciones de IgA e IgM • C3 y C4 del complemento después de múltiples dosis • Se medirán los títulos de anticuerpos específicos contra

	la toxina del tétanos y la toxina de la difteria después de múltiples dosis
Abreviaturas: ADA = anticuerpo antifármaco; AE = evento adverso; IgA = inmunoglobulina A; IgG = inmunoglobulina G; IgM = inmunoglobulina M; nAb = anticuerpo neutralizante; PD = farmacodinámica; PK = farmacocinética; SAE = evento adverso grave.	