



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0613459-9 A2**

(22) Data de Depósito: 03/07/2006
(43) Data da Publicação: 11/01/2011
(RPI 2088)



(51) Int.Cl.:
A61K 39/395
A61K 31/16
A61K 31/33
A61P 29/00

(54) Título: **COMBINAÇÃO DE ANTICORPO ANTI-MADCAM E INIBIDOR DE CASPASE ANTIFIBRÓTICA PARA TRATAR FIBROSE HEPÁTICA**

(30) Prioridade Unionista: 11/07/2005 US 60/698.561

(73) Titular(es): PFIZER LIMITED

(72) Inventor(es): GARY CRAIG BURGESS, ROGER KERRY

(74) Procurador(es): Alexandre Ferreira

(86) Pedido Internacional: PCT IB2006001896 de 03/07/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/007162 de 18/01/2007

(57) Resumo: COMBINAÇÃO DE ANTICORPO ANTI-MADCAM E INIBIDOR DE CASPASE ANTIFIBRÓTICA PARA TRATAR FIBROSE HEPÁTICA. A invenção se refere a uma combinação de um anticorpo anti-MAdCAN com agente antifibrótico, tal como um inibidor de protease, preferivelmente um inibidor de caspase. A invenção também se refere a composições farmacêuticas compreendendo a combinação da invenção, e o uso da combinação para o tratamento de fibrose hepática.

"COMBINAÇÃO DE ANTICORPO ANTI-MADCAM E INIBIDOR DE CASPASE ANTIFIBRÓTICA PARA TRATAR FIBROSE HEPÁTICA"

A invenção refere-se a uma nova combinação de um anticorpo anti-MAdCAM com um agente antifibrótico, tal como
5 um inibidor de protease, preferivelmente um inibidor de caspase. A invenção também se refere às composições farmacêuticas compreendendo a combinação da invenção, e o uso da combinação para o tratamento de fibrose hepática.

A doença do fígado crônica é responsável por mais
10 de 1,4m de mortes anualmente (WHO, Word Healh Report 2004) e nos Estados Unidos está entre as dez principais causas relacionadas com doença de morte (CDC, National Center for Health Statistics, 2004). A fibrose hepática, que é um resultado de inflamação hepática persistente, se deixada sem cuida-
15 do tem serias conseqüências em longo prazo quanto à mortalidade e morbidez do paciente.

A fibrose hepática é um dos processos que ocorre quando o fígado é danificado. Tal dano pode ser o resultado de, por exemplo, atividade viral (por exemplo, tipos de he-
20 patite crônica B ou C) ou outras infecções do fígado (por exemplo, parasitas, bactérias); substâncias químicas (por exemplo, farmacêuticos, medicamento recreativo, álcool excessivo, exposição a poluentes); processos imune (por exemplo, hepatite autoimune); distúrbios metabólicos (por exemplo,
25 distúrbios de armazenamento de lipídeo, glicogênio, ou metal); ou desenvolvimento de câncer (câncer de fígado primário ou secundário). A fibrose é tanto um sinal de dano do fígado quanto um contribuinte potencial para insuficiência

hepática através de cirrose progressiva do fígado.

Há uma seria necessidade médica não atendida. A presente invenção se refere a uma combinação de um anticorpo de molécula de adesão de célula de adesina anti-mucosal (MAdCAM) com um agente antifibrótico, preferivelmente um i-
5 nibidor de protease, mais preferivelmente um inibidor de caspase, que é benéfico para o tratamento de fibrose hepática.

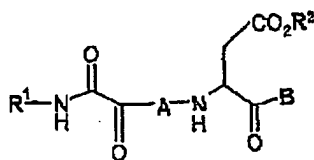
A molécula de adesão de célula adesina mucosal
10 (MAdCAM) é um membro da super-família de imunoglobulina de receptores de adesão de célula. É uma das moléculas de adesão envolvida na convocação de linfócitos para tecidos quando requeridos, por meio de interação com uma molécula de integrina na superfície dos linfócitos.

15 Foi mostrado que os anticorpos que inibe a ligação de MAdCAM a seus pares de ligação de integrina, $\alpha_4\beta_7$, por exemplo, anticorpos anti-MAdCAM (por exemplo MECA-367; US 5.403.919, US 5.538.724) ou anticorpos anti- $\alpha_4\beta_7$ (por exemplo, Act-1; US 6.551.593), pode inibir a extravasão de leu-
20 cócito em intestino inflamado, e pode então ser benéfico no tratamento de doença de intestino inflamatórios (IBD).

Aspectos da Invenção

Um aspecto da invenção é uma combinação de um anticorpo anti-MAdCAM ou porção de ligação de antígeno deste
25 com um agente anti-fibrótico. Preferivelmente, o agente antifibrótico é um inibidor de protease, mais preferivelmente um inibidor de caspase, ainda mais preferivelmente o inibidor de caspase é um composto da fórmula I:

O composto da fórmula I



Fórmula I

Onde A, B, R1 e R2 são como definido abaixo. Preferivelmente, o composto da fórmula I é selecionado de: ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Flúor-4-iodofenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Clorofenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Bromofenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Fluorfenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

15 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Trifluormetilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Antril)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

20 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Terc-Butilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

Trifluorometilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

5 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2,6-

Difluorfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-

Napritil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-

10 Tetrafluorprienoxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(4-

Metoxifenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

15 Trifluormetilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-

Butilmetilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

Benzilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

20 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

Fenilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico.

Ainda mais preferivelmente, o composto é ácido

(3S)-3-[N-(N'-(2-terc-Butilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-

(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico.

25 Em um aspecto da invenção o anticorpo anti-MAdCAM

ou porção de ligação de antígeno deste na combinação é um

anticorpo ou porção de ligação de antígeno deste que especifi-

ficamente liga MAdCAM. Preferivelmente, anticorpo ou porção

é um anticorpo monoclonal humano ou porção de ligação de antígeno deste. Preferivelmente, a anticorpo ou porção possui pelo menos uma das propriedades seguintes:

(a) se liga às células humanas;

5 (b) tem uma seletividade para MAdCAM sob VCAM ou fibronectina de pelo menos 100 vezes;

(c) se liga da MAdCAM humano com um K_d de 3×10^{-10} M ou menos; ou

(d) inibe a ligação de células de expressão de $\alpha_4\beta_7$
10 ao MAdCAM humano.

(e) inibe a convocação de linfócitos para tecido linfóide gastrointestinal.

Preferivelmente, o anticorpo ou porção de ligação de antígeno inibe a ligação de MAdCAM humano a $\alpha_4\beta_7$, e tem
15 pelo menos uma das seguintes propriedades:

(a) competição cruzada com um anticorpo de referência para ligação a MAdCAM;

(b) competição com um anticorpo de referência para ligação a MAdCAM;

20 (c) ligação ao mesmo epítipo de MAdCAM como um anticorpo de referência;

(d) ligação a MAdCAM com substancialmente o mesmo K_d como um anticorpo de referência;

(e) ligação a MAdCAM com substancialmente a mesma
25 taxa como um anticorpo de referência;

onde o anticorpo de referência é selecionado do grupo consistindo em: anticorpo monoclonal 1.7.2, anticorpo monoclonal 1.8.2, anticorpo monoclonal 6.14.2, anticorpo mo-

noclonal 6.22.2, anticorpo monoclonal 6.34.2, anticorpo monoclonal 6.67.1, anticorpo monoclonal 6.73.2, anticorpo monoclonal 6.77.1, anticorpo monoclonal 7.16.6, anticorpo monoclonal 7.20.5, anticorpo monoclonal 7.26.4, anticorpo monoclonal 9.8.2, anticorpo monoclonal 6.22.2-mod, anticorpo monoclonal 6.34.2-mod, anticorpo monoclonal 6.67.1-mod, anticorpo monoclonal 6.77.1-mod e anticorpo monoclonal 7.26.4-mod.

Em outro aspecto da invenção a região variável de cadeia pesada, a região variável de cadeia leve ou ambas do anticorpo anti-MAdCAM são pelo menos 90% idênticas em sequência de aminoácido a região ou regiões correspondente de um anticorpo monoclonal selecionados do grupo consistindo em: anticorpo monoclonal 1.7.2, anticorpo monoclonal 1.8.2, anticorpo monoclonal 6.14.2, anticorpo monoclonal 6.22.2, anticorpo monoclonal 6.34.2, anticorpo monoclonal 6.67.1, anticorpo monoclonal 6.73.2, anticorpo monoclonal 6.77.1, anticorpo monoclonal 7.16.6, anticorpo monoclonal 7.20.5, anticorpo monoclonal 7.26.4 anticorpo monoclonal 9.8.2, anticorpo monoclonal 6.22.2-mod, anticorpo monoclonal 6.34.2-mod, anticorpo monoclonal 6.67.1-mod, anticorpo monoclonal 6.77.1-mod e anticorpo monoclonal 7.26.4-mod.

Preferivelmente o anticorpo é selecionado do grupo consistindo em:

(a) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentado nas SEQ ID NO: 2 e SEQ ID NO: 4, sem as seqüências de sinal;

(b) um anticorpo compreendendo as seqüências de

aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 6 e SEQ ID NO: 8, sem as seqüências de sinal,

(c) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 10 e SEQ ID NO: 12, sem as seqüências de sinal,

(d) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 14 e SEQ ID NO: 16, sem as seqüências de sinal,

(e) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 18 e SEQ ID NO: 20, sem as seqüências de sinal,

(f) um anticorpo compreendendo as seqüências aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 22 e SEQ ID NO: 24, sem as seqüências de sinal,

(g) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 26 e SEQ ID NO: 28, sem as seqüências de sinal,

(h) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 30 e SEQ ID NO: 32, sem as seqüências de sinal,

(i) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 34 e SEQ ID NO: 36, sem as seqüências de sinal,

(j) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 38 e SEQ ID NO: 40, sem as seqüências de sinal,

(k) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 42 e SEQ ID NO: 44,

sem as seqüências de sinal,

(l) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 46 e SEQ ID NO: 48, sem as seqüências de sinal,

5 (m) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 52 e SEQ ID NO: 54, sem as seqüências de sinal,

(n) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 56 e SEQ ID NO: 58, sem as seqüências de sinal,

(o) um anticorpo compreendendo as seqüências de aminoácido apresentados nas SEQ ID NO: 60 e SEQ ID NO: 62, sem as seqüências de sinal,

(p) um anticorpo compreendendo as munições seqüências ácidas apresentados nas SEQ ID NO: 64 e SEQ ID NO: 66, sem as seqüências de sinal, e

(q) um anticorpo compreendendo as munições seqüências ácidas apresentados nas SEQ ID NO: 42 e SEQ ID NO: 68, sem as seqüências de sinal.

20 Em um aspecto da invenção, a lisina C terminal de cadeia pesada podem ser privada do anticorpo anti-MAdCAM da combinação.

Em outro aspecto da invenção, o anticorpo monoclonal ou porção de ligação de antígeno deste é selecionado dos seguintes anticorpos:

25 (a) a cadeia pesada compreende as seqüências de aminoácido CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de um anticorpo de referência selecionado do grupo consistindo em 1.7.2,

1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1,
7.16.6 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-nod,
6.67.1-mod, 6.77.1-mod e 7.26.4-mod,

(b) a cadeia leve compreende as seqüências de ami-
5 noácido CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve de um anticorpo de
referência selecionado do grupo consistindo em 1.7.2, 1.8.2,
6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6,
7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod,
6.77.1-mod e 7.26.4-mod,

10 (c) o anticorpo compreende uma cadeia pesada de
(a) e uma cadeia leve de (b), e

(d) o anticorpo de (c) onde as seqüências de ami-
noácido CDR de cadeia pesada e cadeia leve são selecionadas
do mesmo anticorpo de referência.

15 Em outro aspecto da invenção, o anticorpo monoclo-
nal ou porção de ligação de antígeno compreende:

(a) uma cadeia pesada compreendendo a seqüência de
aminoácido de região variável de cadeia pesada de um anti-
corpo selecionado do grupo consistindo em: 1.7.2 (SEQ ID NO:
20 2); 1.8.2 (SEQ ID NO: 6); 6.14.2 (SEQ ID NO: 10); 6.22.2
(SEQ ID NO: 14); 6.34.2 (SEQ ID NO: 18); 6.67.1 (SEQ ID NO:
22); 6.73.2 (SEQ ID NO: 26); 6.77.1 (SEQ ID NO: 30); 7.16.6
(SEQ ID NO: 34); 7.20.5 (SEQ ID NO: 38); 7.26.4 (SEQ ID NO:
42); e 9.8.2 (SEQ ID NO: 46); 6.22.2-mod (SEQ ID NO: 52);
25 6.34.2-mod (SEQ ID NO: 56); 6.67.1-mod (SEQ ID NO: 60);
6.77.1-mod (SEQ ID NO: 64); e 7.26.4-mod (SEQ ID NO: 42);

(b) uma cadeia leve compreendendo a seqüência de
aminoácido de região variável de cadeia leve de um anticorpo

selecionado do grupo consistindo em: 1.7.2 (SEQ ID NO: 4); 1.8.2 (SEQ ID NO: 8); 6.14.2 (SEQ ID NO: 12); 6.22.2 (SEQ ID NO: 16); 6.34.2 (SEQ ID NO: 20); 6.67.1 (SEQ ID NO: 24); 6.73.2 (SEQ ID NO: 28); 6.77.1 (SEQ ID NO: 32); 7.16.6 (SEQ ID NO: 36); 7.20.5 (SEQ ID NO: 40); 7.26.4 (SEQ ID NO: 44); e 9.8.2 (SEQ ID NO: 48); 6.22.2-mod (SEQ ID NO: 54); 6.34.2-mod (SEQ ID NO: 58); 6.67.1-mod (SEQ ID NO: 62); 6.77.1-mod (SEQ ID NO: 66); e 7.26.4-mod (SEQ ID NO: 68); ou

(c) a cadeia pesada de (a) e a cadeia leve de (b).

10 Ainda outro aspecto da invenção é uma combinação de um anticorpo de integrina anti- $\alpha_4\beta_7$ ou porção de ligação de antígeno deste com um inibidor de caspase como definido aqui. Preferivelmente, o anticorpo inibe a interação de MAdCAM com $\alpha_4\beta_7$ integrina. Mais preferivelmente, o anticorpo
15 é Act-1 humanizado, também chamado MLN02 (WO 01/078779).

Outro aspecto da invenção é o uso médico de qualquer combinação descrito aqui, preferivelmente o uso para o tratamento de fibrose hepática, incluindo, porém não limitado a, ao tratamento de dano do fígado induzindo por Hepatite
20 C, doença do fígado alcoólica, esteatoepatite não alcoólica (NASH).

Outro aspecto da invenção é um método de tratamento de fibrose hepática incluindo, porém não limitado a, ao tratamento de dano do fígado induzindo por Hepatite C, doença do fígado alcoólica, esteatoepatite não alcoólica (NASH),
25 empregando um anticorpo anti-MAdCAM como descrito aqui e um agente anti-fibrótico como descrito aqui.

Outro aspecto da invenção é uma composição farma-

cêutica compreendendo qualquer combinação descrita aqui com um excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

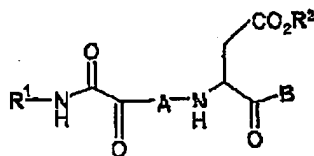
Outro aspecto da invenção é um produto farmacêutico compreendendo um anticorpo anti-MAdCAM como descrito aqui e um agente antifibrótico como descrito aqui para o uso simultâneo, separado, ou sequencial.

Um aspecto adicional da invenção é um kit compreendendo um anticorpo anti-MAdCAM como descrito aqui e um agente antifibrótico como descrito aqui.

10

Descrição Detalhada da Invenção

O agente antifibrótico em combinação da invenção é preferivelmente um inibidor de protease, mais preferivelmente um inibidor de caspase, e ainda mais preferivelmente um composto da fórmula I

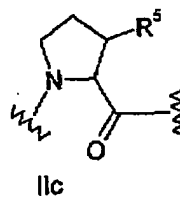
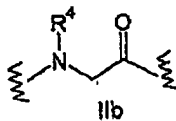
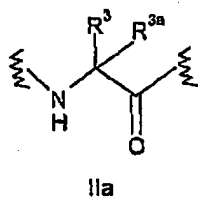


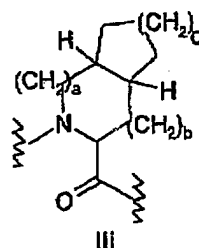
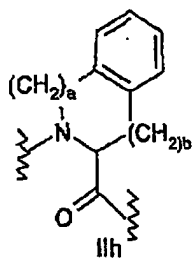
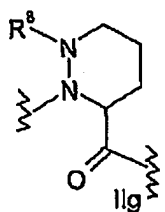
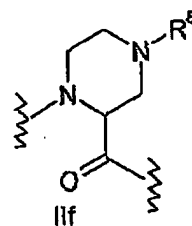
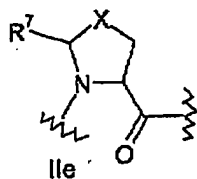
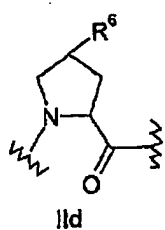
Fórmula I

15

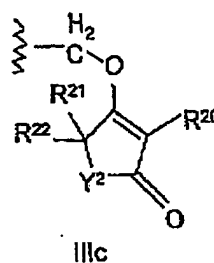
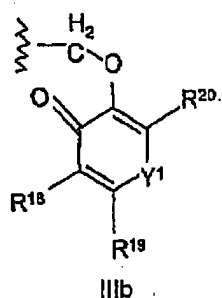
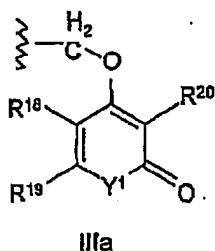
Onde

A é um aminoácido natural ou não natural da Fórmula IIa-I:





B é um átomo de hidrogênio, um átomo de deutério, alquila, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, naftila substituída, 2-benzoxazolila, 2-oxazolila substituída, (CH₂)_n-cicloalquila, (CH₂)_n-fenila, (CH₂)_n-(fenila substituída), (CH₂)_n-(1 ou 2-naftila), (CH₂)_n-(1 ou 2-naftila substituída), (CH₂)_n-(heteroarila), (CH₂)_n-(heteroarila substituída), halometila, CO₂R¹², CONR¹³R¹⁴, CH₂ZR¹⁵, CH₂OCO(arila), CH₂OCO(heteroarila), ou CH₂OPO(R¹⁶)R¹⁷, onde Z é um átomo de enxofre ou oxigênio, ou B é um grupo da Fórmula IIIa-c:



R¹ é alquila, cicloalquila, (cicloalquila)alquila, fenila, fenila substituída, fenilalquila, fenilalquila substituída, naftila, naftila substituída, (1 ou 2 naftila)alquila, (1 ou 2 naftila)alquila substituída, heteroarila, heteroarila substituída, (heteroarila)alquila, (heteroa-

рила)alquila substituída, $R^{1a}(R^{1b})N$, ou $R^{10}O$; e

R^2 é hidrogênio, alquila inferior, cicloalquila, (cicloalquila)alquila, fenila, fenila substituída, fenilalquila, fenilalquila substituída, naftila, naftila substituída, (1 ou 2 naftila)alquila, ou (1 ou 2 naftila)alquila substituída;

E onde:

R^{1a} e R^{1b} são independentemente hidrogênio, alquila, cicloalquila, (cicloalquila)alquila, fenila, fenila substituída, fenilalquila, fenilalquila substituída, naftila, naftila substituída, (1 ou 2 naftila)alquila, (1 ou 2 naftila)alquila substituída, heteroarila, heteroarila substituída, (heteroarila)alquila, ou (heteroarila)alquila substituída, com a condição de que R^{1a} e R^{1b} não possam ambos ser hidrogênio;

R^{1c} é alquila, cicloalquila, (cicloalquila)alquila, fenila, fenila substituída, fenilalquila, fenilalquila substituída, naftila, naftila substituída, (1 ou 2 naftila)alquila, (1 ou 2 naftila)alquila substituída, heteroarila, heteroarila substituída, (heteroarila)alquila, ou (heteroarila)alquila substituída;

R^3 é C_{1-6} alquila, cicloalquila, fenila, fenila substituída, $(CH_2)_nNH_2$, $(CH_2)_nNHCOR^9$, $(CH_2)_nN(C=NH)NH_2$, $(CH_2)_mCO_2R^2$, $(CH_2)_mOR^{10}$, $(CH_2)_mSR^{11}$, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila) ou $(CH_2)_n$ (heteroarila), onde heteroarila inclui piridila, tienila, furila, tiazolila, imidazolila, pirazolila, isoxazolila, pirazinila, pirimidila, triazinila, tetrazoli-

la, e indolila;

R^{3a} é hidrogênio ou metila, ou R^3 e R^{3a} considerado junto são $-(CH_2)_d-$ onde d é um número inteiro de 2 a 6;

R^4 é fenila, fenila substituída, $(CH_2)_m$ fenila,
 5 $(CH_2)_m$ (fenila substituída), cicloalquila, ou cicloalquila de benzo-fundido;

R^5 é hidrogênio, alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila);

10 R^6 é hidrogênio, flúor, oxo, alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila), OR^{10} , SR^{11} , ou $NHCOR^9$;

15 R^7 é hidrogênio, oxo (isto é $=O$), alquila inferior, or, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila);

R^8 é alquila inferior, cicloalquila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída),
 20 $(CH_2)_n$ (1 ou 2 - naftila), ou COR^9 ;

R^9 é hidrogênio, alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila), OR^{12} , ou $NR^{13}R^{14}$;

25 R^{10} é hidrogênio, alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila);

R^{11} é alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila);

R^{12} é alquila inferior, cicloalquila,
 5 $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2 - naftila);

R^{13} é hidrogênio, alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, naftila substituído, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída),
 10 ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila);

R^{14} é hidrogênio ou alquila inferior; ou

R^{13} e R^{14} considerado junto formam um anel de cinco a sete membros de carbocíclico ou heterocíclico, tal como morfolina, ou piperazina N-substituída;

15 R^{15} é fenila, fenila substituída, naftila, naftila substituída, heteroarila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila), ou $(CH_2)_n$ (heteroarila); R^{16} ou R^{17} são independentemente alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, fenilalquila, fenilal-
 20 quila substituída, ou (cicloalquila)alquila;

R^{18} e R^{19} são independentemente hidrogênio, alquila, fenila, fenila substituída, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), ou R^{18} e R^{19} considerado junto são $-(CH=CH)_2$;

R^{20} é hidrogênio, alquila, fenila, fenila substituída,
 25 ida, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída);

R^{21} , R^{22} e R^{23} são independentemente hidrogênio, ou alquila;

X é CH_2 , $(CH_2)_2$, $(CH_2)_3$, ou S;

Y^1 é O ou NR^{23} ;

Y^2 é CH_2 , O, ou NR^{23} ;

a é 0 ou 1 e b é 1 ou 2, desde que quando a for 1
então b seja 1; c é 1 ou 2, desde que quando c for 1 então
5 a seja 0 e b seja 1;

m é 1 ou 2; e

n é 1, 2, 3, ou 4;

ou um sal farmaceuticamente aceitável destes.

Como empregado aqui, o termo "alquila" significa
10 uma cadeia de carbono C_1 a C_{10} reta ou ramificada, tal como
metila, etila, terc-butila, iso-propila, n-octila, e os ou-
tros. O termo "alquila inferior" significa uma cadeia de
carbono C_1 a C_6 reta ou ramificada, tal como metila, etila,
iso-propila, e outros.

15 O termo "cicloalquila" significa um anel mono-,
bi-, ou tricíclico que é ou completamente saturado ou parci-
almente não saturado. Os exemplos de tal um anel incluem
ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, cicloexila, ciclo-
eptila, adamantila, ciclooctila, cis ou trans de decalina,
20 biciclo[2,2,1]hept-2-eno, cicloex-1-enila, ciclopent-1-
enila, 1,4-ciclooctadienila, e outros.

O termo "(cicloalquila)alquila" significa o grupo
alquila acima definido substituída com um dos anéis de ci-
cloalquila acima. Os exemplos de um tal grupo incluem (ci-
25 cloexil)metila, 3-(ciclopropil)-n-propila, 5-
(ciclopentil)hexila, 6-adamantil)hexila, e outros.

O termo "fenila substituída" especifica um grupo
de fenila substituído com um ou mais substituintes selecio-

nado de halogênio, hidróxi, hidróxi protegido, ciano, nitro, trifluorometila, alquila, alcóxi, acila, acilóxi, carbóxi, carbóxi protegido, carboximetila, carboximetila protegida, hidroximetila, hidroximetila protegida, amino, amino protegido, amino (mono-substituído), amino (mono-substituído) 5 protegido, amino (di-substituído), carboxamida, carboxamida protegida, N-(alquila inferior)carboxamida, N-((alquila inferior)sulfonil)amino, N-(fenilsulfonil)amino ou por um grupo de fenila substituído ou não substituído, tal que no último caso um grupo bifenila ou naftila resulte, ou onde dois substituintes de alquila adjacente no anel de fenila substituído considerados juntos formam um cicloalquila para produzir, por exemplo, tetraidronaftila ou indanila. 10

Os exemplos do termo "fenila substituída" incluem 15 um grupo mono-, di-, tri-, tetra, ou penta(halo)fenila tal como 2-, 3-, ou 4-clorofenila, 2,6-diclorofenila, 2,5-diclorofenila, 3,4-diclorofenila, 2,3- ou 4-bromofenila, 3,4-dibromofenila, 3-cloro-4-fluorfenila, 2-, 3- ou 4-fluorfenila, 2,4,6-trifluorfenila, 2,3,5,6-tetrefluorfenila, 2,3,4,5-tetrafluorfenila, 2,3,4,5,6-pentafluorofenila, e outros; um grupo mono ou di(hidróxi)fenila tal como 2-, 3-, ou 4-hidroxifenila, 2,4-diidroxifenila, os derivado de hidróxi protegidos destes e outros; um grupo de nitrofenila tal como 2-, 3-, ou 4-nitrofenila; um grupo de ciano- 25 fenila, por exemplo, 2-, 3-, ou 4-cianofenila; um grupo mono ou di(alquila)fenila tal como 2-, 3-, ou 4- etilfenila, 2-, 3-, ou 4-(n-propil)fenila e outros; um grupo mono ou di(alcóxi)fenila, por exemplo, 2,6-

dimetoxifenila, 2-, 3-, ou 4-(iso-propóxi)fenila, 2-, 3-, ou 4-(t-butóxi)fenila, 3-etóxi-4-metoxifenila e outros; 2-, 3-, ou 4-(hidroximetila protegida)fenila ou 3,4-di(hidroximetila)fenila; um mono- ou di(aminometila)fenila ou (aminometila protegida)fenila tal como 2-, 3- ou 4-(aminometila)fenila ou 2,4-(aminometila protegida)fenila; ou um mono- ou di(N-(metilsulfonilamino))fenila tal como 2-, 3-, ou 4-(N-(metilsulfonilamino))fenila. Também o termo "fenila substituída" representa grupos fenila di-substituídos onde os substituintes são diferentes, por exemplo, 3-metil-4-hidróxifenila, 3-hidróxi-4-nitrofenila, 2-hidróxi-4-clorofenila, e outros.

O termo "fenilalquila" significa um dos grupos fenila acima ligados a um dos grupos alquila descrito acima, e o termo "fenilalquila substituída" significa que ou a fenila ou a alquila ou ambos são substituídas com um ou mais dos substituintes definido acima. Os exemplos de tais grupos incluem 2-fenil-1-cloroetila, 2-(4'-metoxifenil)etila, 4-(2'6'-dihidróxi fenil)n-hexila, 2-(5'ciano-3'-metoxifenil)n-pentila, 3-(2'6'-dimetilfenil)n-propila, 4-cloro-3-aminobenzila, 6-(4'-metoxifenil)-3-carbóxi(n-hexil), 5-(4'-aminometilfenil)-3-(aminometil)n-pentila, 5-fenil-3-oxo-n-pent-1-il, (4-hidroxinaft-2-il)metila, e outros.

O termo "naftila substituída" significa um grupo naftila substituído com um ou mais substituintes identificados acima, e o termo "(1 ou 2 naftila)alquila" significa uma naftila (1 ou 2) ligada a um dos grupos alquila descritos acima.

Os termos "halo" e "halogênio" se refere aos grupos fluoro, cloro, bromo ou iodo. Estes termos podem também ser empregados para descrever um ou mais halogênios, que sejam iguais ou diferentes. Os halogênios preferidos no contexto desta invenção são cloro e fluoro.

O termo "arila" se refere a anéis carbocíclico cinco e seis de membros aromáticos. Os anéis de seis membros são preferidos.

O termo "heteroarila" se refere a anéis heterocíclico de cinco membros ou seis membros aromáticos opcionalmente substituídos que têm 1 a 4 heteroátomos, tal como átomos de oxigênio, enxofre e/ou nitrogênio, em particular nitrogênio, ou só ou em conjunto com átomos de anel de enxofre ou oxigênio.

Os seguintes sistemas de anel são exemplos representativos dos radicais de heterocíclico denotados pelo termo "heteroarila" (ou substituído ou não substituído): teinila, furila, pirrolila, pirrolidinila, imidazolila, isoxazolila, triazolila, tiadiazolila, oxadiazolila, tetrazolila, tiatriazolila, oxatriazolila, piridila, pirimidila, pirazinila, piridazinila, oxazinila, triazinila, tiadiazinila, tetrazolo, 1,5-[b]piridazinila e purinila, bem como derivados benzo-fundidos, por exemplo, benzoxazolila, benzotiazolila, benzimidazolila e indolila.

Os Substituintes para os anéis de heteroarila opcionalmente substituídos acima são de um a três halo, trialometa, amino, amino protegido, sais de amino, amino monosubstituído, amino di-substituído, carbóxi, carbóxi protegido

do, sais de carboxilato, hidróxi, hidróxi protegido, sais de um grupo hidróxi, alcóxi inferior, alquiltio inferior, alquila inferior, alquila inferior substituída, cicloalquila, cicloalquila substituída, (cicloalquila)alquila, (cicloal-
 5 quila)alquila substituída, fenila, fenila substituída, fenilalquila, e grupos fenilalquila substituída.

Os substituintes para o grupo heteroarila são como definido acima, ou como apresentado abaixo. Como empregado em conjunto com os substituintes acima para anéis de hetero-
 10 arila, "trialometila" podem ser trifluorometila, triclorometila, tribromometila ou triiodometila"; alcóxi inferior significa um grupo alcóxi C_1 a C_4 , similarmente, "alquiltio inferior" significa um grupo alquiltio C_1 a C_4 . O termo "alquila inferior substituída" significa o grupo alquila infe-
 15 rior definido acima substituído de uma a três vezes por um hidróxi, hidróxi protegido, amino, amino protegido, ciano, halo, trifluorometila, amino mono-substituído, amino di-substituído, alcóxi inferior, alquiltio inferior, carbóxi, carbóxi protegido, ou um sal de carbóxi, amino, e/ou hidró-
 20 xi.

Como empregado em conjunto com os substituintes para os anéis de heteroarila, os termos "(cicloalquila)alquila substituída" e "cicloalquila substituída" são como definido acima substituídos com os mesmos grupos como
 25 listado para um grupo "alquila substituída". O termo "amino (mono-substituído)" se refere a um grupo amino com um substituinte escolhido do grupo consistindo em grupo fenila, fenila substituída, alquila, alquila substituída, acila C_1 a

C₇, alquenila C₂ a C₇, alquenila C₂ a C₇ substituída, alquínila C₂ a C₇, alquilarila C₇ a C₁₆, alquilarila C₇ a C₁₆ substituída e heteroarila. O amino (mono-substituído) pode adicionalmente ter um grupo de proteção de amino como abrangido
 5 pelo termo "amino (mono-substituído) protegido". O termo "amino (di-substituído)" se refere a grupos amino com dois substituintes escolhido do grupo consistindo em fenila, fenila substituída, alquila, alquila substituído, acila C₁ a C₇, alquenila C₂ a C₇, alquinila C₂ a C₇, alquilarila C₇ a C₁₆
 10 substituída e heteroarila. Os dois substituintes podem ser iguais ou diferentes. O termo "heteroaril(alquil)" significa um grupo alquila como definido acima, substituído em qualquer posição por um grupo de heteroarila, como acima definido.

15 Além disso, os anéis heterocíclico de cinco membros ou seis membros substituídos opcionalmente acima, e os anéis de cicloalquila acima, podem opcionalmente se fundido a um sistema de anel de cinco membros ou seis membros aromáticos tal como um sistema de piridina ou um triazol, e preferivelmente a um anel de benzeno.
 20

O termo "grupo proteção carbóxi" como empregado aqui se refere a um dos derivado de éster do grupo ácido carboxílico geralmente empregado para bloquear ou proteger o grupo ácido carboxílico ao mesmo tempo em que as reações são
 25 realizadas em outros grupos funcionais no composto. Os exemplos de tais grupos de proteção de ácido carboxílico incluem t-butila, 4-nitrobenzila, 4-metoxibenzila, 3,4-dimetoxibenzila, 2,4-dimetoxibenzila, 2,4,6-

trimetoxibenzila, 2,4,6-trimetilbenzila, pentametilbenzila, 3,4-metilenedioxibenzila, benzidril, 4,4'-dimetoxitritila, 4,4',4''-trimetoxitritila, 2-fenilpropila, trimetilsilila, t-butiladimetilsilila, fenacila, 2,2,2-tricloroetila, β -
 5 (trimetilsilil)etila, β -(di(n-butil)metilsilil)etila, p-toluenosulfonietila, 4-nitrobenzilsulfonietila, alila, cinamila, 1-(trimetilsililmetil)-propenila e outras frações. As espécies de grupo de proteção carbóxi empregado não é crítica contanto que o ácido carboxílico derivado seja está-
 10 vel às condições de reação subsequente e possa ser removido no ponto adequado sem romper o resto da molécula.

O termo "grupo de proteção hidróxi" se refere a grupos facilmente cliváveis ligados grupos hidroxila, tal como o tetraidropiranila, 2-metoxiprop-2-il, 1-etoxietil-1-
 15 il, metoximetila, β -metoxietoximetila, metiltiometa, t-butila, t-amila, tritila, 4-metoxitritila, 4,4'-dimetoxitritila, 4,4',4''-trimetoxitritila, benzila, alila, trimetilsilila, (t-butil)dimetilsilila, 2,2,2-tricloroetoxicarbonila, e outros.

20 O termo "grupo de proteção amino" como empregado aqui se refere a substituintes do grupo amino geralmente empregado para bloquear ou proteger a funcionalidade de amino ao mesmo tempo em que reagindo outros grupos funcionais da molécula. O termo "amino (mono-substituído) protegido" sig-
 25 nifica que há um grupo de proteção amino no átomo de nitrogênio de amino mono-substituído. Os exemplos para tais grupos de proteção amino são listados em WO 00/01666.

Os termos "aminoácido natural e não natural" se

referem a ambos aminoácidos de ocorrência natural e outros α -aminoácidos não proteinogênico geralmente utilizados por aqueles nas técnica química de peptídeo quando preparado análogos sintéticos de peptídeos de ocorrência natural, incluindo as formas de D e L. Os aminoácidos de ocorrência natural são glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, metionina, teonina, fenilalanina, tirosina, triptofano, cisteína, prolina, histidina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutâmico, glutamina, ácido γ -carboxiglutâmico, arginina, ornitina e lisina. Os exemplos de α -aminoácido não naturais incluem hidroxizina, citrulina, quinurrenina, (4-aminofenil)alanina, 3-(2'-naftil)alanina, 3-(1'-naftil)alanina, sulfona de metionina, (t-butil)alanina, (t-butil)glicina, 4-hidroxifenil-glicina, aminoalanina, fenilglicina, vinilalanina, propargil-glicina, 1,2,4-triazolo-3-alanina, tironina, 6-hidroxitriptofano, 5-hidroxitriptofano, 3-hidroxiquinurrenina, 3-aminotirosina, trifluorometilalanina, 2-tienilalanina, (2-(4-piridil)etil)cisteína, 3,4-dimetóxi-fenilalanina, 3-(2'-tiazolil)alanina, ácido iboténico, ácido 1-amino-1-ciclopentano-carboxílico, ácido 1-amino-1-cicloexanocarboxílico, ácido quisquálico, 3-(trifluorometilfenil)alanina, (cicloexil)glicina, tioistidina, 3-metoxitirosina, norleucina, norvalina, aloisoleucina, homoarginina, tioprolina, deidroprolina, hidroxiprolina, homoprolina, ácido indolina-2-carboxílico, ácido 1,2,3,4-tetraidroisoquinolina-3-carboxílico, ácido 1,2,3,4-tetraidroquinolina-2-carboxílico, ácido α -amino-n-butírico, ciclohexilalanina, ácido 2-amino-3-fenilbutírico, fenilala-

nina substituída na posição orto, meta, ou para da fração de fenila com um ou dois dos seguintes grupos: um alquila (C_1 a C_4), um alcóxi (C_1 a C_4), um grupo halogênio ou nitro, ou substituído uma vez com um grupo metilondióxi; β -2- e 3-tienilalanina; β -2- e 3-furanilalanina; β -2-, 3- e 4-piridilalanina, β -(benzotienil-2- e 3-il)alanina; β -(1- e 2-naftil)alanina; derivados O-alkuilados de serina, treonina ou tirosina; S-cisteína alkuilada, homocisteína S-alkuilada, os ésteres de O-sulfato, O-fosfato, e O-carboxilato de tirosina, 3-(sulfo)tirosina, 3-(carbóxi)tirosina, 3-(fosfo)tirosina, o éster de ácido 4-metano-sulfônico de tirosina, éster de ácido 4-metanofosfônico de tirosina, 3,5-diodotirosina, 3-nitrotirosina, ϵ -alkuilalisina, e ornitina δ -alkuila. Quaisquer destes α -aminoácidos pode ser substituído com um grupo metila na alfa posição, um halogênio em qualquer posição do resíduo aromático na cadeia lateral α -amino, ou um grupo de proteção apropriado nos átomos de O, N, ou S dos resíduos de cadeia lateral. Os grupos de proteção apropriados são descritos acima.

Dependendo da escolha de solvente e outras condições conhecidas pela pessoa versada, estes compostos podem também tomar a forma de cetel ou acetal, e o uso destas formas na combinação da invenção é incluído na invenção.

Estes compostos podem ser preparados como descrito em WO 00/01666 ou em US 6.544.951, desse modo incorporado por referência na sua totalidade.

Os subgrupos preferidos são esses listados em US 6.544.951.

Um composto preferido da fórmula I é selecionado de:

- ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-benzilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 5 ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 10 ácido (3S)-3-[N-(N'-(Benzil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-fenoxifenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 15 ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftilametil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(4-Cloro-1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 20 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Antril)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(Fenetil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 25 ácido (3S)-3-[N-(N'-(Fenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Fenilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(4-n-

Heptilafenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

5

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(5,6,7,8-Tetraidro-1-

Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(1-

Adamantila)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-

10 Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(4-

Fluorfenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetraflurfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(2-

15 Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(2-

metoxifenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopetanóico;

20

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(N''-N'''-

Difenilamoni)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(4-

Piridinil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-

25 Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(2-

Pirazinil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1,2,3,4-Tetraidro-1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

5 ácido (3S)-3-[N-(N'-(3,4,5-Trimetoxibenzil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(Benzidril)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

10 ácido (3S)-3-[N-(N'-(3-Fenoxilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-Butilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

15 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Piridinil)Oxamil)valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorphenoxy)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2,3,5,6-Tetrafluoro-4-Piridinil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-iodofenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

25 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2,6-Difluorfenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2,5-Di-terc-

Butilfenil) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2', 3', 5', 6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(5-

indanil) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2', 3', 5', 6'-

5 Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(Metil) Oxamil) Valinil] Amino-5-

(2', 3', 5', 6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(n-

Heptila) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2', 3', 5', 6'-

10 Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(tect-

Octyl) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2', 3', 5', 6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(

15 (Cicloexila) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2', 3', 5', 6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(5-fenila-3-

Pirazolila) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2', 3', 5', 6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

20 ácido

(3S)-3-[N-(N'-(2, 3, 4, 5-

Tetrafluorfenil) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2', 3', 5', 6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(2, 3, 4, 6-

Tetrafluorfenil) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2', 3', 5', 6'-

25 Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido

(3S)-3-[N-(N'-(2, 3, 5, 6-

Tetraclorofenil) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2', 3', 5', 6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

- ácido (3S)-3-[N-(N'-(2,3,4,5,6-Pentafluorfenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 5 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Benzimidazolil)Oxamil)Varinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',6'-Difluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 10 ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',4',6'-Trifluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-5-(Difenilfosfinilóxi)-4-Oxopentanóico;
- 15 ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-5-(Metilfenilfosfinilóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3RS)-3-[N-(N'-(1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-5-Fluor-4-Oxopentanóico;
- 20 ácido (3S)-3-[N-(N'-(Fenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(5,6,7,8-Tetraidro-1-Naftila)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 25 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Fenilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

- ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Benzilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 5 ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftilametil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Fenoxifenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 10 ácido (3S)-3-[N-(N'-(3-Fenoxilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(4-Fenilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 15 ácido (3S)-3-[N-(N'-(Benzidril)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Fenilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2'-Fluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 20 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-Butilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2'-Fluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;
- 25 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Fenilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(Difenilfosfinóxi)-4-Oxopentanóico;
- ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-

Naftila) Oxamil) Alaninil] Amino-5-(Difenilfosfinilóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila) Oxamil) Leucinil] Amino-5-(2',4',6'-Trifluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila) Oxamil) (terc-Butila) Glicinil] Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila) Oxamil) (terc-Butila) Norleucinil] Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila) Oxamil) (terc-Butil) Alaninil] Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-Naftil) Oxamil) Leucinil] Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila) Oxamil) Leucinil] Amino-5-(Metilfenilfosfinilóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila) Oxamil) Leucinil] Amino-5-Fluoro-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila) Oxamil) Leucinil] Amino-5-(Difenilfosfinilóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-(1H-Tetrazol-5-il) Fenil) Oxamil) Valinil] Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Adamantila) Fenil) Oxamil) Valinil] Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-Fenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(Benzil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

5 ácido (3S)-3-[N-(N'(Fenetil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Fenoxifenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

10 ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(4-Cloro-1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

15 ácido (3S)-3-[N-(N'-(5,6,7,8-Tetraidro-1-Naftila)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1,2,3,4-Tetraidro-1-Naftila)Oxamil)Valinil]Annino-4-Oxobutanóico;

20 ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftilametil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Naftila)Oxamil)Leucinil]Amino-4-Oxobutanóico;

Especialmente preferido são compostos selecionados de:

25 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Flúor-4-Iodofenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

Clorofenil) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2',3',5',6'-
Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

Bromofenil) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2',3',5',6'-

5 Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

Fluorofenil) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

10 Trifluormetilfenil) Oxamil) Valinil] Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Antril) Oxamil) Vali-

nil] Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-

15 Butilfenil) Oxamil) Alaninil] Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

Trifluormetilfenil) Oxamil) Alaninil] Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

20 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2,6-

Difluorofenil) Oxamil) Alaninil] Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-

Naftila) Oxamil) Alaninil] Amino-5-(2',3',4',5',6'-

25 Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(4-

Metoxifenil) Oxamil) Alaninil] Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorprienoxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Trifluormetilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-Butilmetilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

5 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Benzilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Fenilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico.

Mais preferivelmente, o composto é ácido (3S)-3-
10 [N-(N'-(2-Terc-Butilfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico.

O anticorpo anti-MAdCAM ou porção de ligação de antígeno deste é preferivelmente um anticorpo como descrito em WO2005/067620, desse modo incorporado por referência em
15 sua totalidade. Em particular, todas SEQ ID Nos referidas aqui se refere às seqüências atualmente descrita em WO2005/067620.

Preferivelmente o anticorpo anti-MAdCAM empregado na invenção especificamente liga MAdCAM. Ainda mais preferivelmente, pelo menos as seqüências de CDR do referido anticorpo são seqüências de CDR humanas, ou uma porção de ligação de antígeno de um anticorpo humano. Preferivelmente o anticorpo é um anticorpo humano, mais preferivelmente um anticorpo que atua como um antagonista MAdCAM.

25 Outro aspecto da invenção é o uso na combinação da invenção da cadeia de leve e/ou pesada do referido anticorpo anti-MAdCAM ou a região variável ou outra porção de ligação de antígeno deste, ou moléculas de ácido nucléico codifican-

do qualquer dos anteriores e um veículo farmacologicamente aceitável. Este aspecto da invenção inclui o uso de fragmentos de quaisquer dos anticorpos anteriores, incluindo porém não limitado aos fragmentos, fragmentos $F(ab')_2$, fragmentos Fv de cadeia única (scFv).

Preferivelmente, o anticorpo anti-MAdCAM é um anticorpo anti-MAdCAM inibidor humano selecionado de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod como descrito em WO2005/067620. Preferivelmente, o anticorpo anti-MAdCAM compreende a cadeia leve compreendendo uma sequência de aminoácido selecionada da SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44, 48, 54, 58, 62, 66 ou 68 como descrito em WO2005/067620 (com ou sem a sequência de sinal) ou a região variável de qualquer uma das referidas sequências de aminoácido, ou um ou mais CDRs destas sequências de aminoácido. O anticorpo anti-MAdCAM preferivelmente compreende uma cadeia pesada compreendendo uma sequência de aminoácido selecionada da SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 42, 46, 52, 56, 60 ou 64 como descrito em WO2005/067620 (com ou sem a sequência de sinal) ou a sequência de aminoácido da região variável, ou de um ou mais CDRs das referidas sequências de aminoácido. O anticorpo anti-MAdCAM preferivelmente é um anticorpo anti-MAdCAM humano compreendendo a sequência de aminoácido início do CDR1 ao fim do CDR3 de qualquer uma das sequências mencionada acima. O anticorpo anti-MAdCAM empregado na invenção pode também ser um anticorpo anti-MAdCAM

compreendendo uma ou mais regiões de FR de quaisquer das seqüências mencionada acima.

O anticorpo anti-MAdCAM empregado na combinação da invenção pode também incluir um anticorpo anti-MAdCAM compreendendo uma das seqüências de aminoácido acima mencionada nas quais uma ou mais modificações foram feitas. Por exemplo, cisteínas no anticorpo, que pode ser quimicamente reativa, são substituídas com outro resíduo, tal como, sem limitação, alanina ou serina. A substituição pode esta em uma cisteína não canônica ou em uma cisteína canônica. A substituição pode ser feita em uma região estrutura ou CDR de um domínio variável ou no domínio constante de um anticorpo.

Uma substituição de aminoácido pode também ser feita para eliminar sítios proteolíticos potenciais no anticorpo. Tais sítios podem ocorre em uma região estrutura ou CDR de um domínio variável ou no domínio constante de um anticorpo. A substituição de resíduos de cisteína e remoção de sítios proteolíticos pode diminuir a heterogeneidade no produto de anticorpo. Os pares de asparagina-glicina, que formam sítios de desamidação potenciais, podem ser eliminados alterando-se um ou ambos os resíduos. Uma substituição de aminoácido pode ser feita para adicionar ou remover sítios de glicosilação potenciais na região variável de um anticorpo empregado na invenção.

A lisina C terminal da cadeia pesada do anticorpo anti-MAdCAM empregado na invenção pode ser clivada. As cadeias pesadas e leves dos anticorpos anti-MAdCAM podem opcionalmente incluir uma seqüência de sinal.

Doze anticorpos monoclonal anti-MAdCAM humanos i-
 nibidores preferidos para usar na combinação da invenção são
 descrito em detalhes em WO2005/067620: 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2,
 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5,
 5 7.26.4 e 9.8.2.

Classe e Subclasse de Anticorpos Anti-MAdCAM

O anticorpo pode ser uma molécula de IgG, IgM, I-
 gE, IgA ou IgD. Preferivelmente o anticorpo é uma classe de
 IgG e é uma subclasse IgG₁, IgG₂, IgG₃ ou IgG₄. Mais prefe-
 10 rivelmente, o anticorpo anti-MAdCAM é subclasse IgG₂ ou
 IgG₄. Mais preferivelmente, o anticorpo anti-MAdCAM é a
 mesma classe e subclasse como anticorpo 1.7.2, 1.8.2,
 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod,
 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod que é IgG₂, ou 6.14.2, 6.22.2,
 15 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1 ou 9.8.2 que é IgG₄ como des-
 crito em WO2005/067620.

A classe e subclasse de anticorpos anti-MAdCAM po-
 dem ser determinadas por qualquer método conhecido na técni-
 ca. Em geral, a classe e subclasse de um anticorpo podem
 20 ser determinadas empregando anticorpos que são específico
 para uma classe e subclasse particular de anticorpo. Tais
 anticorpos estão disponíveis comercialmente. ELISA, macha do
 oeste bem como outras técnicas podem determinar a classe e
 subclasse. Alternativamente, a classe e subclasse podem ser
 25 determinadas através de sequenciamento todos ou uma porção
 dos domínios constantes das cadeias pesadas e/ou leves dos
 anticorpos, comparando suas seqüências de aminoácido com às
 seqüências de aminoácido conhecidas de várias classes e sub-

classe de imunoglobulinas, e determinando a classe e sub-classe dos anticorpos como classe mostrando a identidade de sequência superior.

Espécies e Seletividade de Molécula

5 O anticorpo anti-MAdCAM empregado na combinação da invenção demonstra tanto as espécies quanto a seletividade de molécula. O anticorpo anti-MAdCAM pode se ligar ao MAdCAM humano, cinomolgo ou de cachorro. Outros anticorpos anti-MAdCAM empregados na combinação da invenção não se ligam
10 a uma espécie de macaco New World como um sagüi. Alguém pode determinar a seletividade de espécie para o anticorpo anti-MAdCAM empregando métodos bem conhecido na técnica. Por exemplo, alguém determinar seletividade de espécies empregando macha do oeste, FACS, ELISA ou imunoistoquímica. Em
15 uma modalidade preferida, alguém pode determinar a seletividade de espécie empregando imunoistoquímica.

Um anticorpo anti-MAdCAM empregado na combinação da invenção que especificamente liga MAdCAM tem seletividade para MAdCAM sobre VCAM, fibronectina ou qualquer outro antígeno que seja pelo menos 10 vezes, preferivelmente pelo menos 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 ou 90 vezes, mais preferivelmente pelo menos 100 vezes. Preferivelmente o anticorpo anti-MAdCAM não exibe qualquer ligação apreciável a VCAM, fibronectina ou qualquer outro antígeno exceto MAdCAM. Alguém
20 pode determinar a seletividade do anticorpo anti-MAdCAM para MAdCAM empregando métodos bem conhecido na técnica seguindo os ensinamentos da especificação. Por exemplo, alguém pode determinar a seletividade empregando macha do oeste, FACS,

ELISA, ou imunoistoquímica.

Afinidade de Ligação de Anticorpos Anti-MAdCAM a MAdCAM

Os anticorpos anti-MAdCAM empregado na combinação da invenção preferivelmente especificamente se ligam a MAdCAM com afinidade elevada. Um anticorpo anti-MAdCAM empregado na combinação da invenção especificamente se liga a MAdCAM com um K_d de 3×10^{-8} M ou menos, quando medido por ressonância de plásmon superficial, tal como BIAcore. Preferivelmente, o anticorpo especificamente se liga a MAdCAM com um K_d de 1×10^{-8} ou menos ou 1×10^{-9} M ou menos. Mais preferivelmente, o anticorpo especificamente se liga a MAdCAM com um K_d ou 1×10^{-10} M ou menos. Um anticorpo empregado na combinação especificamente se liga a MAdCAM com um K_d de $2,66 \times 10^{-10}$ M ou menos, $2,35 \times 10^{-11}$ M ou menos ou 9×10^{-12} M ou menos. Preferivelmente, o anticorpo especificamente se liga ao MAdCAM com um K_d ou 1×10^{-11} M ou menos. Preferivelmente, o anticorpo especificamente se liga ao MAdCAM com substancialmente o mesmo K_d como um anticorpo selecionado de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. Um anticorpo com "substancialmente o mesmo K_d " como um anticorpo de referência tem um K_d que é ± 100 pM, preferivelmente ± 50 pM, mais preferivelmente ± 20 pM, ainda mais preferivelmente ± 10 pM, ± 5 pM ou ± 2 pM, comparados com o K_d do anticorpo de referência na mesma experiência. Preferivelmente, o anticorpo se liga ao MAdCAM com substancialmente o mesmo K_d como um

anticorpo que compreende um ou domínios mais variáveis ou um ou mais CDRs de um anticorpo selecionado de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod como descrito em WO2005/067620. Preferivelmente, o anticorpo se liga a MAdCAM com substancialmente o mesmo K_d como um anticorpo que compreende uma das seqüências de aminoácido selecionado da SEQ ID NOS: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 48, 52, 54, 56, 58, 62, 64, 66 ou 68 (com ou sem a seqüência de sinal) como descrito em WO2005/067620, ou o domínio variável deste. Preferivelmente, o anticorpo se liga a MAdCAM com substancialmente o mesmo K_d como um anticorpo que compreende um ou mais CDRs de um anticorpo que compreende uma seqüência de aminoácido selecionado da SEQ ID NOS: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 48, 52, 54, 56, 58, 62, 64, 66 ou 68 como descrito em WO2005/067620.

A afinidade de ligação de um anticorpo anti-MAdCAM ao MAdCAM pode ser determinada por qualquer método conhecido na técnica. Em uma modalidade, a afinidade de ligação pode ser medida por ELISAs, RIAs ou ressonância de plásmon superficial competitivos, tal como BIAcore. Em uma modalidade mais preferida, a afinidade de ligação é medida por ressonância de plásmon superficial. Em uma modalidade ainda mais preferida, a afinidade de ligação e taxa de dissociação são medidas empregando um BIAcore. Um exemplo de determinar afinidade de ligação pode ser encontrado em WO2005/067620.

Meia-vida dos Anticorpos Anti-MAdCAM

O anticorpo anti-MAdCAM empregado na combinação da invenção tem uma meia-vida de pelo menos um dia *in vitro* ou *in vivo*. Preferivelmente, o anticorpo ou porção deste tem uma meia-vida de pelo menos três dias. Mais preferivelmente, o anticorpo ou porção tem uma meia-vida de quatro dias ou mais. Ainda mais preferivelmente, o anticorpo ou porção deste tem uma meia-vida de oito dias ou mais. O anticorpo ou porção de ligação de antígeno deste empregado na invenção pode também ser derivado ou modificado tal que tem uma meia-vida mais longa, como descrito abaixo. Em outra modalidade preferida, o anticorpo pode conter mutação pontual para aumentar a meia vida do soro, tal como descrito em WO 00/09560.

A meia-vida do anticorpo pode ser medida por quaisquer meio conhecidos a alguém tendo experiência ordinária na técnica. Por exemplo, a meia vida do anticorpo pode ser medida por macha do oeste, ELISA ou RIA durante um período apropriado de tempo. A meia-vida do anticorpo pode ser medida em qualquer animal apropriado, tal como um primata, por exemplo, macaco cinomolgo, ou um humano.

Identificação de Epítomos MAdCAM Reconhecidos por Anticorpo Anti-MAdCAM

A invenção também fornecer uma combinação com um agente antifibrótico de um anticorpo anti-MAdCAM humano que liga o mesmo antígeno ou epítopo como um anticorpo anti-MAdCAM humano fornecido aqui. Além disso, a invenção fornece a combinação com um agente antifibrótico de um anticorpo

anti-MAdCAM humano que compete ou compete cruzado com um anticorpo anti-MAdCAM humano. Preferivelmente, o anticorpo anti-MAdCAM humano é 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. Preferivelmente, o anticorpo anti-MAdCAM humano compreende um ou mais domínios variáveis ou um ou mais CDRs de um anticorpo selecionado de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. Preferivelmente, o anticorpo anti-MAdCAM humano compreende uma das seqüências de aminoácido selecionado de SEQ ID NOS: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 48, 52, 54, 56, 58, 62, 64, 66 ou 68 (com ou sem a seqüência de sinal) como descrito em WO2005/067620, ou um domínio variável deste. Preferivelmente, o anticorpo anti-MAdCAM humano compreende um ou mais CDRs de um anticorpo que compreende uma das seqüências de aminoácido selecionado de SEQ ID NOS: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 48, 52, 54, 56, 58, 62, 64, 66 ou 68, como descrito em WO2005/067620.

Alguém pode determinar se um anticorpo anti-MAdCAM se liga ao mesmo antígeno como outro anticorpo anti-MAdCAM empregando uma variedade de métodos conhecido na técnica. Por exemplo, alguém pode usar um anticorpo anti-MAdCAM conhecido para capturar o antígeno, eluir o antígeno do anticorpo anti-MAdCAM, e em seguida determina se o anticorpo de

teste se ligará ao antígeno de eluído. Alguém pode determinar se um anticorpo compete com um anticorpo anti-MAdCAM ligando-se por anticorpo anti-MAdCAM ao MAdCAM sob condições saturação, e então medindo a capacidade do anticorpo de teste de se ligar a MAdCAM. Se o anticorpo de teste é capaz de se ligar ao MAdCAM ao mesmo tempo como o anticorpo anti-MAdCAM, então o anticorpo de teste se liga ao um epítipo diferente que o anticorpo anti-MAdCAM. Entretanto, se o anticorpo de teste não é capaz de se ligar ao MAdCAM ao mesmo tempo, então o anticorpo de teste compete com um anticorpo anti-MAdCAM humano. Esta experiência pode ser realizada empregando ELISA, ou ressonância de plásmon superficial ou, preferivelmente, BIAcore. Para testar se um anticorpo anti-MAdCAM compete cruzado com outro anticorpo anti-MAdCAM, alguém pode usar o método de competição descrito acima em duas direções, isto é, determinando se o anticorpo conhecido bloqueia o anticorpo de teste e vice-versa.

Uso de Gene de Cadeia Leve ou Pesada

A invenção também fornecer a combinação com agente antifibrótico de um anticorpo anti-MAdCAM que compreende uma região variável de cadeia leve codificada por um gene κ humano. Preferivelmente, a região variável de cadeia leve é codificada por uma família de gene V κ A2, A3, A26, B3, O12 ou O18 humano. Preferivelmente, a cadeia leve compreende não mais que onze, não mais que seis ou não mais que três substituições de aminoácido da sequência V κ A2, A3, A26, B3, O12 ou O18 humana de linha germinativa. Preferivelmente, as substituições de aminoácido são substituições conservadoras.

Preferivelmente, o VL do anticorpo anti-MAdCAM contém as mesmas mutações, relativo a sequência de aminoácido da linha germinativa, como qualquer um ou mais do VL de anticorpos 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. A invenção inclui a combinação com agente antifibrótico de um anticorpo anti-MAdCAM que utiliza o mesmo genes Jk humano e Vk humano como um anticorpo exemplificado. O anticorpo pode compreender um ou mais das mesmas mutações de linha germinativa como um ou mais anticorpos exemplificados, ou o anticorpo pode compreender substituições diferentes em uma ou mais das mesmas posições como um ou mais dos anticorpos exemplificados. Por exemplo, o VL do anticorpo anti-MAdCAM pode conter uma ou mais substituições de aminoácido que são iguais àquela presente no anticorpo 7,16,6, e outra substituição de aminoácido que é igual como anticorpo 7,26,4. Desta maneira, alguém pode misturar e combinar diferentes características de ligação de anticorpo a fim de alterar, por exemplo, a afinidade do anticorpo para MAdCAM ou sua taxa de dissociação do antígeno. As mutações podem ser feitas na mesma posição como aquelas encontradas em qualquer um ou mais do VL de anticorpos 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod, porém as substituições de aminoácido conservadoras são feitas exceto empregando o mesmo aminoácido. Por exemplo, se a substituição de aminoácido comparada à linha

germinativa em um dos anticorpos 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod é glutamato, alguém pode substituir conservadamente aspartato. Similarmente, se a substituição de aminoácido foi serina, alguém pode substituir conservadamente treonina.

A cadeia leve do anticorpo anti-MAdCAM pode compreender uma sequência de aminoácido que é a mesma como a sequência de aminoácido do VL de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. A cadeia leve preferivelmente compreende sequências de aminoácido que são as mesmas como às regiões de CDR da cadeia leve de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. A cadeia leve pode compreender uma sequência de aminoácido com pelo menos uma região de CDR da cadeia leve de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. A cadeia leve pode compreender sequências de aminoácido com CDRs de cadeias de leves diferentes que usam os mesmos genes V_k e J_k. Preferivelmente os CDRs de cadeias leves diferentes são obtidos de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. Preferi-

velmente a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácido selecionada de SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44, 48, 54, 58, 62, 64, 66 ou 68 como descrito em WO2005/067620 com ou sem a sequência de sinal. Preferivelmente a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácido codificada por uma sequência de nucleotídeo selecionada de SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35, 39, 43, 47, 53, 57, 61, 65 ou 67 (com ou sem a sequência de sinal) como descrito em WO2005/067620, ou uma sequência de nucleotídeo que codifica uma sequência de aminoácido que tem 1-11 inserções de aminoácido, deleções ou substituições desta. Preferivelmente, as substituições de aminoácido são substituições de aminoácido conservadoras. O anticorpo ou porção deste pode compreender uma cadeia leve lambda.

15 A presente invenção também fornece a combinação com um agente anti-fibrótico de um anticorpo anti-MAdCAM ou porção deste que compreende uma sequência de gene VH humana ou uma sequência derivada de um gene VH humano. A sequência de aminoácido de cadeia pesada pode ser derivada de uma família de gene 1-18, 3-15, 3-21, 3-23, 3-30, 3-33 ou 4-4 VH humano. Preferivelmente, a cadeia pesada compreende não mais do que quinze, não mais do que seis ou não mais do que três alterações de aminoácido da sequência de gene 1-18, 3-15, 3-21, 3-23, 3-30, 3-33 ou 4-4 VH humana da linha germinativa.

SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 42 e 46 como descrito em WO2005/067620 fornecem as sequências de aminoácido das cadeias pesadas de tamanho natural de

doze anticorpos anti-MAdCAM que podem ser empregados na combinação da invenção.

Preferivelmente, o VH do anticorpo anti-MAdCAM contém as mesmas mutações, relativo à sequência de aminoácido de linha germinativa, como qualquer um ou mais do VH de anticorpos 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. Similar àquele descrito acima, o anticorpo compreende uma ou mais das mesmas mutações de linha germinativa como um ou mais anticorpos exemplificados. O anticorpo também pode compreender substituições diferentes em uma ou mais das mesmas posições como um ou mais dos anticorpos exemplificados. Por exemplo, o VH do anticorpo anti-MAdCAM pode conter uma ou mais substituições de aminoácido que estão iguais àquelas presentes no anticorpo 7.16.6, e outra substituição de aminoácido que é igual ao anticorpo 7.26.4. Desta maneira, alguém pode misturar e combinar características diferentes de ligação de anticorpo para alterar, por exemplo, a afinidade do anticorpo com MAdCAM ou sua taxa de dissociação do antígeno. Uma substituição de aminoácido comparada com a linha germinativa pode ser feita na mesma posição como uma substituição da linha germinativa como encontrado em qualquer um ou mais do VH de anticorpo de referência 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4 - mod, porém a posição é substituída com um resíduo diferente, que é uma substituição conservado-

ra comparado com o anticorpo de referência.

Preferivelmente a cadeia pesada do anticorpo anti-MAdCAM empregada na combinação da invenção compreende uma sequência de aminoácido que é igual à sequência de aminoácido do VH de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. Mais preferivelmente, a cadeia pesada compreende as sequências de aminoácido que são iguais às regiões de CDR da cadeia pesada de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. Preferivelmente, a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácido de pelo menos uma região de CDR da cadeia pesada de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.4, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod, ou a cadeia pesada pode compreender as sequências de aminoácido com CDRs de cadeias pesadas diferentes. Preferivelmente, os CDRs de cadeias pesadas diferentes são obtidos de 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod. Preferivelmente, a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácido selecionada de SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 42, 46, 52, 56, 60 ou 64 como descrito em WO2005/067620 com ou sem a sequência de sinal. A cadeia pesada também pode compreender uma sequência de aminoácido codificada por uma sequência de nu-

cleotídeo selecionada de SEQ ID NOS: 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45, 51, 55, 59 ou 63 como descrito em WO2005/067620, ou uma sequência de nucleotídeo que codifica uma sequência de aminoácido que tem 1-15 inserções, deleções ou substituições de aminoácido nela. As substituições são preferivelmente substituições de aminoácido conservadoras.

Ácidos Nucléicos, Vetores, Células Hospedeiras e Métodos Recombinantes para a Fabricação de Anticorpos.

Os ácidos nucleicos, vetores, células hospedeiras e métodos recombinantes para a fabricação destes anticorpos são descritos em WO 2005/067620.

Anticorpos Rotulados e Derivados

Um anticorpo ou porção de anticorpo para a combinação da invenção pode ser derivado ou ligado à outra molécula (por exemplo, outro peptídeo ou proteína). Em geral, os anticorpos ou porções destes são derivados tal que a ligação de MAdCAM não seja adversamente afetada pela derivação ou rotulação. Conseqüentemente, os anticorpos e porção de anticorpo para a combinação da invenção são pretendidos incluir tanto as formas intactas quanto as modificadas dos anticorpos anti-MAdCAM humanos descritos aqui. Por exemplo, um anticorpo ou porção de anticorpo empregado na invenção pode ser funcionalmente ligado (através de acoplamento químico, fusão genética, associação não covalente ou de outro modo) a uma ou mais outras entidades moleculares, tal como outro anticorpo (por exemplo, a anticorpo bi-específico ou um diacorpo), um agente de detecção, um agente citotóxico, um agente farmacêutico, e/ou uma proteína ou peptídeo que

possa mediar a associação do anticorpo ou porção de anticorpo com outra molécula (tal como região núcleo de estreptavidina ou um rótulo de poliistidina).

Um tipo de anticorpo derivado é produzido por re-
5 ticulação de dois ou mais anticorpos (do mesmo tipo ou de tipos diferentes, por exemplo, para criar anticorpos biespecíficos). Os reticuladores adequados incluem esses que são heterobifuncionais, tendo dois grupos distintamente reativos separados por um espaçador apropriado (por exemplo, éster de
10 m-maleimidobenzoil-N-hidroxissuccinimida) ou homobifuncional (por exemplo, suberato de dissuccinimidila). Tais ligadores estão disponíveis de Pierce Chemical Company, Rockford, III.

Outro tipo de anticorpo derivado é um anticorpo rotulado. Os agentes de detecção úteis com os quais um an-
15 ticorpo ou porção de anticorpo da invenção pode ser derivado incluem compostos fluorescentes, incluindo fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, cloreto de 5-dimetilamina-1-naftalenossulfonila, ficoeritrina, fósforos de lantanida e outros. Um anticorpo também pode ser rotula-
20 do com enzimas que são úteis para detecção, tal como rábano picante peroxidase, β -galactosidase, luciferase, alcalina fosfatase, glicose oxidase e outros. Quando um anticorpo é rotulado com uma enzima detectável, ele é detectado adicionando-se os reagentes adicionais que a enzima usa para pro-
25 duzir um produto de reação que pode ser discernido. Por exemplo, quando o agente de peroxidase rábano picante estiver presente, a adição de peróxido de hidrogênio e diaminobenzidina conduz a um produto de reação colorido, que é detectá-

vel. Um anticorpo também pode ser rotulado com biotina, e detectado por medição indireta de avidina ou ligação de estreptavidina. Um anticorpo pode ser rotulado com agente magnético, como gadolínio. Um anticorpo também pode ser rotulado com um epítipo de polipeptídeo predeterminado reconhecido por um repórter secundário (por exemplo, seqüências de par de zíperes da leucina, sítios de ligação para anticorpos secundários, domínios de ligação de metal rótulos do epítipo). Em algumas modalidades, os rótulos são fixos por braços espaçadores de vários comprimentos para reduzir o impedimento estérico potencial.

Um anticorpo anti-MAdCAM também pode ser rotulado com um aminoácido radiorrotulado. O radiorrótulo pode ser empregado para propósitos diagnósticos e terapêuticos. Por exemplo, o radiorrótulo pode ser empregado para descobrir tecidos expressando MAdCAM por radiografia ou outras técnicas diagnósticas. Além disso, o radiorrótulo pode ser empregado terapeuticamente como uma toxina para tecido doente ou tumores expressando MAdCAM. Os exemplos de rótulos para polipeptídeos incluem, porém não estão limitados aos seguintes radioisótopos ou radionuclídeos ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I .

Um anticorpo anti-MAdCAM também pode ser derivado com um grupo químico tal como polietileno glicol (PEG), um grupo metila ou etila, ou um grupo carboidrato. Estes grupos podem ser úteis para melhorar as características biológicas do anticorpo, por exemplo, para aumentar a meia vida do soro ou aumentar a ligação de tecido. Esta metodologia

também se aplicaria a qualquer fragmento de ligação de antígeno ou versões de anticorpos anti-MAdCAM.

Kits e Composições Farmacêuticas

Em um aspecto adicional, a invenção fornece composições que compreendem um anticorpo anti-MAdCAM inibidor humano e métodos para tratar indivíduos com tais composições. Em algumas modalidades, o indivíduo do tratamento é humano. Em outras modalidades, o indivíduo é um indivíduo veterinário. Em algumas modalidades, o indivíduo veterinário é um cachorro ou um primata não humano.

O tratamento pode envolver a administração de um ou mais anticorpos monoclonais inibidores anti-MAdCAM, ou fragmentos de ligação de antígeno destes, sozinho ou com um veículo farmacêuticamente aceitável. Os anticorpos anti-MAdCAM inibidores e composições que os compreende, podem ser administrados em combinação com um ou mais outros agentes terapêuticos, diagnósticos ou profiláticos. Como empregado aqui, "veículo farmacêuticamente aceitável" quer dizer qualquer e todos os solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes antibacteriano e antifúngicos, agentes de retardamento e realce de absorção e isotônico, e outros que são fisiologicamente compatíveis. Alguns exemplos de veículos farmacêuticamente aceitáveis são água, salina, salina tamponada de fosfato, tampão de acetato com cloreto de sódio, dextrose, glicerol, polietileno glicol, etanol e outros, como também combinações destes. Em muitos casos, será preferível incluir os agentes isotônicos, por exemplo, açúcares, poliálcoois, tal como manitol, sorbitol, ou cloreto

de sódio na composição. Os exemplos adicionais de substâncias farmacêuticamente aceitáveis são tensoativos, agentes umectantes ou quantidades menores de substâncias auxiliares tal como agentes umectantes ou emulsificantes, preservativos
5 ou tampões que realçam a vida de prateleira ou efetividade do anticorpo.

As composições empregadas nesta invenção podem estar em uma variedade de formas, por exemplo, formas de dosagem líquidas, semi-sólidas e sólidas, tal como soluções lí-
10 quidas (por exemplo, soluções injetáveis e infusíveis), dispersões ou suspensões, comprimidos, pílulas, massa liofilizada, pó seco, lipossomas e supositórios. A forma preferida depende do modo pretendido de administração e aplicação terapêutica. As composições preferidas típicas estão na forma
15 de soluções injetáveis ou infusíveis, tal como composições similares àquelas empregadas para imunização passiva de humanos. O modo preferido de administração é parenteral (por exemplo, intravenoso, subcutâneo, intraperitoneal, intramuscular, intradérmico). Em uma modalidade preferida, o anti-
20 corpo é administrado por infusão ou injeção intravenosa. Em outra modalidade preferida, o anticorpo é administrado por injeção intramuscular, intradérmica ou subcutânea. Se desejado, o anticorpo pode ser administrado empregando uma bomba, enema, supositório, ou reservatório de demora ou similares.
25 res.

As composições terapêuticas devem ser tipicamente estéreis e estáveis sob condições de fabricação e armazenamento. A composição pode ser formulada como uma solução,

massa liofilizada, pó seco, microemulsão, dispersão, liposoma, ou outra estrutura ordenada adequada para alta concentração de droga. As soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas incorporando o anticorpo anti-MAdCAM na quantidade exigida em um solvente apropriado com um ou uma combinação de ingredientes enumerados acima, como requerido, seguido por esterilização. No caso de pós-estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos preferidos de preparação são secagem à vácuo e liofilização que produz um pó do ingrediente ativo mais qualquer ingrediente desejado adicional de uma solução previamente estéril. Geralmente, as dispersões são preparadas incorporando-se o composto ativo em um veículo estéril que contém um meio de dispersão básico e os outros ingredientes exigidos daqueles enumerados acima. AS características desejadas de uma solução podem ser mantidas, por exemplo, pelo uso de tensoativos e o tamanho de partícula exigido no caso de dispersão pelo uso de tensoativos, fosfolipídeos e polímeros. A absorção prolongada de composições injetáveis pode ser provocada incluindo-se na composição um agente que retarde a absorção, por exemplo, sais de monoestearato, materiais poliméricos, óleos e gelatina.

Os anticorpos da combinação da presente invenção podem ser administrados por uma variedade de métodos conhecidos na técnica, embora para muitas aplicações terapêuticas a rotina/modo preferida de administração seja subcutânea, intramuscular, intradérmica ou infusão intravenosa. Como será apreciado pelo técnico versado, o modo e/ou rotina de

administração variará dependendo dos resultados desejados. Em certas modalidades, as composições de anticorpo podem ser preparadas com um veículo que protegerá o anticorpo contra liberação rápida, tal como uma formulação de liberação controlada, incluindo implantes, emplastos transdérmicos, e sistemas de liberação microencapsulados. Os polímeros biocompatíveis, biodegradáveis podem ser empregados, tal como acetato de vinila de etileno, polianidretos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, e ácido polilático. Muitos métodos para a preparação de tais formulações são patenteados ou geralmente conhecidos por aqueles versados na técnica. Veja, por exemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems (J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., Nova Iorque (1978)).

Em certas modalidades, um anticorpo anti-MAdCAM da combinação da invenção pode ser oralmente administrado, por exemplo, com um diluente inerte ou um veículo comestível assimilável. O composto (e outros ingredientes, se desejado) também pode ser incluído em uma cápsula de gelatina de casca dura ou macia, prensados em comprimidos, ou incorporados diretamente na dieta do indivíduo. Para administração terapêutica oral, os anticorpos anti-MAdCAM podem ser incorporados com excipientes e empregados na forma de comprimidos ingeríveis, comprimidos bucais, pastilhas, cápsulas, elixires, suspensões, xaropes, bolachas, e outros. Para administrar um composto da invenção por outras que não seja a administração parenteral, pode ser necessário cobrir o composto com, ou co-administra o composto com, um material para pre-

venir sua inativação.

As composições da invenção podem incluir uma "quantidade terapeuticamente efetiva" ou uma "quantidade profilaticamente efetiva" de um anticorpo ou porção de ligação de antígeno da invenção. Uma "quantidade terapeuticamente efetiva" se refere a uma quantidade efetiva, em dosagens e durante períodos de tempo necessários, para alcançar o resultado terapêutico desejado. Uma quantidade terapeuticamente efetiva do anticorpo ou porção de anticorpo pode variar de acordo com fatores tal como o estado de doença, idade, sexo, e peso do indivíduo, e a capacidade do anticorpo ou porção de anticorpo de extrair uma resposta desejada no indivíduo. Uma quantidade terapeuticamente efetiva também é uma na qual qualquer efeito tóxico ou prejudicial do anticorpo ou porção de anticorpo é mais importante que os efeitos terapeuticamente benéficos. Uma "quantidade profilaticamente efetiva" se refere a uma quantidade efetiva, em dosagens e durante períodos de tempo necessários, para alcançar o resultado profilático desejado. Tipicamente, uma vez que uma dose profilática é empregada em indivíduos antes de ou em um estágio precoce da doença, a quantidade profilaticamente efetiva pode ser menor do que a quantidade terapeuticamente efetiva.

Os regimes de dosagem podem ser ajustados para fornecer a resposta desejada ideal (por exemplo, uma resposta terapêutica ou profilática). Por exemplo, um bolo único pode ser administrado, várias doses divididas podem ser administradas com o passar do tempo ou a dose pode ser propor-

cionalmente reduzida ou aumentada como indicado pelas exigências da situação terapêutica. É especialmente vantajoso formular composições parenterais na forma de unidade de dosagem para facilidade de administração e uniformidade de dosagem. A forma de unidade de dosagem como empregado aqui se refere a unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias para os indivíduos mamíferos a serem tratados; cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de composto ativo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o veículo farmacêutico exigido. A especificação para as formas de unidade de dosagem da invenção é ditada por e diretamente dependentes (a) das características únicas do anticorpo anti-MAdCAM ou porção deste e do efeito terapêutico ou profilático particular a ser alcançado, e (b) das limitações inerentes na técnica de compor um tal anticorpo para o tratamento de sensibilidade em indivíduos.

Uma faixa não limitante exemplar para uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente efetiva de um anticorpo ou porção de anticorpo da invenção é 0,025 a 50 mg/kg, mais preferivelmente 0,1 a 50 mg/kg, mais preferivelmente 0,1-25, 0,1 a 10 ou 0,1 a 3 mg/kg. Em algumas modalidades, uma formulação contém 5 mg/mL de anticorpo em um tampão de 20 mM de acetato de sódio, pH 5,5, 140 mM de NaCl, e 0,2 mg/mL de polissorbato 80. Em outras modalidades, uma formulação contém 10 mg/ml de anticorpo em 2,73 mg/ml de triidrato de acetato de sódio, 45 mg/ml de manitol, 0,02 mg/ml de diidrato de EDTA de dissódio, 0,2 mg/ml de polis-

sorbato 80, ajustados para pH 5,5 com ácido acético glacial, por exemplo, para uso intravenoso. Em outras modalidades, uma formulação contém 50 mg/ml de anticorpo, 2,73 mg/ml de triidrato de acetato de sódio, 45 mg/ml de manitol, 0,02
5 mg/ml de diidrato de EDTA dissódio, 0,4 mg/ml de polissorbato 80, ajustados para pH 5,5 com ácido acético glacial, por exemplo, para uso subcutâneo ou intradérmico. Será observado que os valores de dosagem podem variar com o tipo e gravidade da condição a ser aliviada. Deve ser também entendido
10 do que para qualquer indivíduo particular, regimes de dosagem específicos deveriam ser ajustados com o passar do tempo de acordo com a necessidade individual e o julgamento profissional da pessoa que administra ou supervisiona a administração das composições, e que as faixas de dosagem apresentadas aqui são exemplares somente e não é pretendido
15 limitarem o escopo ou prática da composição reivindicada.

Outro aspecto da presente invenção fornece kits que compreendem um anticorpo anti-MAdCAM ou porção de anticorpo da invenção ou uma composição que compreende um tal
20 anticorpo com um agente anti-fibrótico como descrito aqui. Um kit pode incluir, além do anticorpo ou composição e do agente anti-fibrótico, outros agentes terapêuticos ou diagnósticos. Um kit também pode incluir instruções para uso em um método diagnóstico ou terapêutico.

25 Terapia de Gene

Os anticorpos empregados na combinação da invenção podem ser administrados a um paciente em necessidade destes por terapia de gene. A terapia pode ser ou *in vivo* ou *ex vi-*

vo. Em uma modalidade preferida, as moléculas de ácido nucléico que codificam tanto uma cadeia pesada quanto uma cadeia leve são administradas a um paciente. Em uma modalidade mais preferida, as moléculas de ácido nucléico são administradas tal que elas sejam estavelmente integradas em cromossomos de células B porque estas células são especializadas para produzir anticorpos. Em uma modalidade preferida, as células B precursoras são transfectadas ou infectadas *ex vivo* e re-transplantadas em um paciente em necessidade deste.

10 Em outra modalidade, as células precursoras B ou outras células são infetadas *in vivo* empregando um vírus recombinante conhecido por infectar o tipo de célula de interesse. Os vetores típicos empregados para terapia de gene incluem lipossomas, plasmídeos e vetores viróticos. Os vetores viróticos exemplares são retrovírus, adenovírus e vírus adenoas-

15 sociados. Após a infecção ou *in vivo* ou *ex vivo*, os níveis de expressão de anticorpo podem ser monitorados tomando-se uma amostra do paciente tratado e empregado qualquer imunoensaio conhecido na técnica ou descrito aqui.

20 Em uma modalidade preferida, o método de terapia de gene compreende as etapas de administrar uma molécula de ácido nucléico isolada codificando a cadeia pesada ou uma porção de ligação de antígeno desta de um anticorpo anti-MAdCAM e expressando a molécula de ácido nucléico. Em outra

25 modalidade, o método de terapia de gene compreende as etapas de administrar uma molécula de ácido nucléico isolada codificando a cadeia leve ou uma porção de ligação de antígeno desta de um anticorpo anti-MAdCAM e expressando a molécula

de ácido nucléico. Em um método mais preferido, o método de terapia de gene compreende as etapas de administração de uma molécula de ácido nucléico isolada que codifica a cadeia pesada ou uma porção ligação de antígeno desta e uma molécula de ácido nucléico isolada codificando a cadeia leve ou a porção ligação de antígeno desta de um anticorpo anti-MAdCAM da invenção e expressando as moléculas de ácido nucléico. O método de terapia de gene também pode compreender a etapa de administrar outro antiinflamatório ou agente imunomodulador.

10 Inibição de adesão dependente de $\alpha_4\beta_7$ -MAdCAM por anticorpo anti-MAdCAM:

A invenção também fornece a combinação com um agente anti-fibrótico de um anticorpo anti-MAdCAM que liga MAdCAM e inibe a ligação e adesão de $\alpha_4\beta_7$ -integrina transportando células para MAdCAM ou outros ligandos cognatos, tal como L-selectina, para MAdCAM. Em uma modalidade preferida, o MAdCAM é humano e está ou em uma forma solúvel, ou expresso na superfície de uma célula. Em outra modalidade preferida, o anticorpo anti-MAdCAM é um anticorpo humano.

20 Em outra modalidade, o anticorpo ou porção deste inibe a ligação entre disso $\alpha_4\beta_7$ e MAdCAM com um valor de IC_{50} de não mais do que 50 NM. Em uma modalidade preferida, o valor de IC_{50} é não mais do que 5 NM. Em uma modalidade mais preferida, o valor de IC_{50} é menos do que 5 NM. Em uma modalidade mais preferida, o valor de IC_{50} é menos do que 0,05 $\mu\text{g/mL}$, 0,04 $\mu\text{g/mL}$ ou 0,03 $\mu\text{g/mL}$. Em outra modalidade preferida o valor de IC_{50} é menor do que 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 0,4 $\mu\text{g/mL}$ ou 0,3 $\mu\text{g/mL}$. O valor de IC_{50} pode ser medido por qualquer mé-

todo conhecido na técnica. Tipicamente, um valor de IC_{50} pode ser medido por ELISA ou ensaio de adesão. Em uma modalidade preferida, o valor de IC_{50} é medido por ensaio de adesão que usa ou células ou tecido que nativamente expressam MAdCAM ou células ou tecidos que foram construído para expressar MAdCAM.

A menos que de outro modo definido aqui, os termos técnicos e científicos empregados com relação à presente invenção terão os significados que são geralmente compreendidos por aqueles de experiência ordinária na técnica. Além disso, a menos que de outro modo exigido pelo contexto, os termos singulares deverão inclui pluralidades e termos plurais deverão incluir o singular. Geralmente, as nomenclaturas empregadas com relação à, e técnicas de, cultura de célula e tecido, biologia molecular, imunologia, microbiologia, genéticas, proteína e química de ácido nucléico e hibridização descritas aqui são aquelas bem conhecidas e geralmente empregadas na técnica. Os métodos e técnicas da presente invenção são geralmente realizados de acordo com os métodos convencionais conhecidos na técnica e como descrito em várias referências gerais e mais específicas que são citadas e descritas ao longo da especificação presente a menos que de outro modo indicado. Veja, por exemplo, Sambrook e outros, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª edição, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989) e Ausubel e outros, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992), e Harlow e Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor

Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990), que estão aqui incorporados por referência. As técnicas de purificação e reações enzimáticas são realizadas de acordo com as especificações de fabricante, como geralmente realizado na arte ou como descrito aqui. As técnicas padrões são empregadas para sínteses químicas, análises químicas, preparação farmacêutica, formulação, e liberação, e tratamento de pacientes.

O termo "polipeptídeo" abrange proteínas nativas ou artificiais, fragmentos de proteína e análogos de polipeptídeo de uma sequência de proteína. Um polipeptídeo pode ser monomérico ou polimérico.

O termo "proteína isolada" ou "polipeptídeo isolado" é uma proteína ou polipeptídeo que em virtude de sua origem ou fonte de derivação (1) não é associado com componentes naturalmente associados que os acompanham em seu estado nativo, (2) está livre de outras proteínas das mesmas espécies (3) é expresso por uma célula de uma espécie diferente, ou (4) não é de ocorrência natural. Desse modo, um polipeptídeo que é quimicamente sintetizado ou sintetizado em um sistema celular diferente da célula da qual ele naturalmente origina será "isolado" de seus componentes naturalmente associados. Uma proteína também pode ser tornada substancialmente livre de componentes naturalmente associados através de isolamento, empregando técnicas de purificação de proteína bem conhecidas na técnica.

Uma proteína ou polipeptídeo é "substancialmente pura", "substancialmente homogênea" ou "substancialmente pu-

rificado" quando pelo menos cerca de 60 a 75% de uma amostra
exibe uma única espécie de polipeptídeo. O polipeptídeo ou
proteína pode ser monomérico ou multimérico. Um polipeptí-
deo ou proteína substancialmente pura incluirá tipicamente
5 cerca de 50%, 60%, 70%, 80% ou 90% e peso/peso de uma amos-
tra de proteína, mais geralmente cerca de 95%, e preferivel-
mente será mais de 99% puro. A pureza ou homogeneidade de
proteína pode ser indicada por vários meios bem conhecidos
na técnica, tal como eletroforese de gel de poliacrilamida
10 de uma amostra de proteína, seguido por visualização de uma
única banda de polipeptídeo ao manchar o gel com uma mancha
conhecida na técnica. Para certos propósitos, a resolução
mais elevada pode ser fornecida empregando-se HPLC ou outros
meios bem conhecidos na técnica para purificação.

15 O termo "fragmento de polipeptídeo" como empregado
aqui se refere a um polipeptídeo que tem uma deleção amino-
terminal e/ou carbóxi-terminal, porém onde a seqüência de
aminoácido restante é idêntica às posições correspondentes
na seqüência de ocorrência natural. Em algumas modalidades,
20 os fragmentos são pelo menos 5, 6, 8 ou 10 aminoácidos lon-
gos. Em outras modalidades, os fragmentos são pelo menos 14
aminoácidos longos, mais preferivelmente pelo menos 20 ami-
noácidos longos, normalmente pelo menos 50 aminoácidos lon-
gos, ainda mais preferivelmente pelo menos 70, 80, 90, 100,
25 150 ou 200 aminoácidos longos.

O termo "análogo de polipeptídeo" como empregado
aqui se refere a um polipeptídeo que compreende um segmento
de pelo menos 25 aminoácidos que tem identidade substancial

a uma porção de uma sequência de aminoácido e que tem pelo menos uma das seguintes propriedades: (1) ligação específica a MAdCAM sob condições de ligação adequadas, (2) capacidade de inibir a ligação de $\alpha_4\beta_7$ integrina e/ou L-selectina a MAdCAM, ou (3) capacidade de reduzir a expressão de superfície de célula de MAdCAM *in vitro* ou *in vivo*. Tipicamente, os análogos de polipeptídeo compreendem uma substituição de aminoácido conservadora (ou inserção ou deleção) com respeito à sequência de ocorrência natural. Os análogos tipicamente são pelo menos 20 aminoácidos longos, preferivelmente pelo menos 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 ou 200 aminoácidos longos ou mais longos, e podem freqüentemente ser tão longo quanto um polipeptídeo de ocorrência natural de tamanho natural. Uma "imunoglobulina" é uma molécula tetramérica. Em uma imunoglobulina de ocorrência natural, cada tetrâmero é composto de dois pares idênticos de cadeias de polipeptídeo, cada par tendo uma cadeia "leve" (cerca de 25 kDa) e uma cadeia "pesada" (cerca de 50-70 kDa). A porção amino-terminal de cada cadeia inclui uma região variável de cerca de 100 a 110 ou mais aminoácidos principalmente responsável pelo reconhecimento de antígeno. A porção carboxi-terminal de cada cadeia define uma região constante principalmente responsável pela função efetora. As cadeias leves humanas são classificadas como cadeias leves κ e λ . As cadeias pesadas são classificadas como μ , δ , γ , α , ou ϵ , e define o isótipo do anticorpo como IgM, IgD, IgG, IgA, e IgE, respectivamente. Dentro das cadeias leves e pesadas, as regiões variáveis e constantes são unidas por uma região "J" de cerca de 12 ou

mais aminoácidos, com a cadeia pesada também incluindo uma região "D" de cerca de 10 ou mais aminoácidos. Geralmente veja, *Fundamental Immunology*, Capítulo 7 (Paul, W., ed., 2ª edição, Raven Press, N.Y. (1989)) (incorporado por referência em sua totalidade para todos os propósitos). As regiões variáveis de cada cadeia leve/pesada formam o sítio de ligação de anticorpo tal que uma imunoglobulina intacta tenha dois sítios de ligação.

As cadeias de imunoglobulina exibem a mesma estrutura geral de regiões de estrutura relativamente conservadas (FR) unidas por três regiões hipervariáveis, também chamadas regiões ou CDRs de determinação de complementaridade. Os CDRs das duas cadeias de cada par são alinhados pelas regiões de estrutura para formar um sítio de ligação específico de epítipo. Da terminação N a terminação C, ambas cadeias leves e pesadas incluem os domínios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 e FR4. O desígnio dos aminoácidos para cada domínio é de acordo com as definições Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 e 1991)), ou Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.*, 196:901-917(1987); Chothia e outros, *Nature*, 342:878-883(1989), cada dos quais está aqui incorporado por referência em sua totalidade.

Um "anticorpo" se refere a uma imunoglobulina intacta ou a uma porção de ligação de antígeno desta que compete com o anticorpo intacto para ligação específica. Em algumas modalidades, um anticorpo é uma porção de ligação de antígeno deste. As porções de ligação de antígeno podem ser pro-

duzidas por técnicas de DNA recombinantes ou por clivagem enzimática ou química de anticorpos intactos. As porções de ligação de antígeno incluem, entre outras, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, dAb, e fragmentos de região de determinação de complementaridade (CDR), anticorpos de cadeia única (scFv), anticorpos quiméricos, diacorpos e polipeptídeos que contêm pelo menos uma porção de uma imunoglobulina que é suficiente para conceder ligação de antígeno específico ao polipeptídeo. Um fragmento de Fab é um fragmento monovalente que
 10 consiste nos domínios 'VL, VH, CL e CH1; um fragmento de F(ab)₂ é um fragmento bivalente que compreende dois fragmentos Fab unidos por uma ponte de dissulfeto na região de dobradiça; um fragmento Fd consiste nos domínios de VH e CH1; um fragmento de Fv consiste nos domínios de VL e VH de um
 15 único braço de um anticorpo; e um fragmento de dAb (Ward e outros, *Nature*, 341:544-546(1989)) consiste em um domínio de VH.

Como empregado aqui, um anticorpo que é referido como, por exemplo, 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.34.2, 6.67.1,
 20 6.77.2, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4 ou 9.8.2, é um anticorpo monoclonal que é produzido pelo hibridoma do mesmo nome. Por exemplo, o anticorpo 1.7.2 é produzido pelo hibridoma 1.7.2. Um anticorpo que é referido como 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod ou 7.26.4-mod é um anticorpo monoclo-
 25 nal cuja sequência foi modificada de sua origem correspondente por mutagênese direcionada ao sítio.

Um anticorpo de cadeia única (scFv) é um anticorpo no qual as regiões de VL e VH são emparelhadas para formar

uma molécula monovalente por um ligador sintético que as possibilitam serem feitas como uma única cadeia de proteína (Bird e outros, *Science*, 242:423-426 (1988) e Huston e outros, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:5879-5883 (1988)). Os

5 diacorpos são anticorpos bivalentes, biespecíficos nos quais os domínios de VH e VL são expressos em uma única cadeia de polipeptídeo, porém empregando um ligador que é muito curto para permitir emparelhar entre os dois domínios na mesma cadeia, desse modo forçando os domínios a emparelhar com domí-

10 nios complementares de outra cadeia e criando dois sítios de ligação de antígeno (veja, por exemplo, Holliger, P., e outros, *Proc. Natl. Acad. Sci. E.U.A.*, 90: 6444-6448 (1993) e Poljak, R. J., e outros, *Structure*, 2:1121-1123 (1994)). Um ou mais CDRs de um anticorpo da invenção podem ser incorpo-

15 rados em uma molécula covalentemente ou não covalentemente para torná-las uma imunoadesina que especificamente se liga a MAdCAM. Uma imunoadesina pode incorporar o CDR(s) como parte de uma cadeia de polipeptídeo maior, possa covalentemente ligar o CDR(s) a outra cadeia de polipeptídeo, ou pode

20 incorporar o CDR(s) não covalentemente. Os CDRs permitem que a imunoadesina especificamente se ligue a um antígeno particular de interesse.

Um anticorpo pode ter um ou mais sítios de ligação. Se houver mais do que um sítio de ligação, os sítios

25 de ligação podem ser idênticos, um ao outro ou podem ser diferentes. Por exemplo, uma imunoglobulina de ocorrência natural tem dois sítios de ligação idênticos, um anticorpo de cadeia única ou fragmento de Fab tem um sítio de ligação, ao

mesmo tempo em que um anticorpo "biespecífico" ou "bifuncional" (diacorpo) tem dois sítios de ligação diferentes.

Um "anticorpo isolado" é um anticorpo que (1) não é associado com componentes naturalmente-associados, incluindo outros anticorpos naturalmente associados, que os acompanham em seu estado nativo, (2) é livre de outras proteínas das mesmas espécies, (3) é expresso por uma célula de uma espécie diferente, ou (4) não ocorre *in nature*. Os exemplos de anticorpos isolados incluem um anticorpo anti-MAdCAM que foi purificado por afinidade empregando MAdCAM, um anticorpo anti-MAdCAM que foi produzido por uma hibridoma ou outra linhagem de célula *in vitro*, e um anticorpo anti-MAdCAM humano derivado de um mamífero ou planta transgênica.

Como empregado aqui, o termo "anticorpo humano" significa um anticorpo no qual as seqüências de região variável e constante são seqüências humanas. O termo abrange anticorpos com seqüências derivadas de genes humanos, porém que foram alterados, por exemplo, para diminuir possível imunogenicidade, aumentar a afinidade, eliminar as cisteínas ou sítios de glicosilação que podem causar duplicação indesejável, etc. O termo abrange tais anticorpos recombinantemente produzidos em células não humanas que poderiam conceder glicosilação não típica de células humanas. O termo também abrange anticorpos que foram elevados em um camundongo transgênico que compreende algum ou todo loco de cadeia pesada e leve de imunoglobulina humana.

Em um aspecto, a invenção fornece um anticorpo humanizado. Em algumas modalidades, o anticorpo humanizado é

um anticorpo que é derivado de uma espécie não humana nas quais certos aminoácidos na estrutura e domínios constantes das cadeias pesadas e leves foram mutados para evitar ou abrogar uma resposta imune em humanos. Em algumas modalidades, um anticorpo humanizado pode ser produzido fundindo-se os domínios constantes de um anticorpo humano com os domínios variáveis de uma espécie não humana. Os exemplos de como fazer anticorpos humanizados pode ser encontrado nas Patentes dos Estados Unidos Nos. 6.054.297, 5.886.152 e 5.877.293. Em algumas modalidades, um anticorpo anti-MAdCAM humanizado da invenção inclui a sequência de aminoácido de uma ou mais regiões de estrutura de um ou mais anticorpos anti-MAdCAM humanos da invenção.

Em outro aspecto, a invenção inclui o uso de um "anticorpo quimérico". Em algumas modalidades o anticorpo quimérico se refere a um anticorpo que contém uma ou mais regiões de um anticorpo e uma ou mais regiões de um ou mais outros anticorpos. Em uma modalidade preferida, um ou mais do CDRs são derivados de um anticorpo anti-MAdCAM humano da invenção. Em uma modalidade mais preferida, todos CDRs são derivados de um anticorpo anti-MAdCAM humano da invenção. Em outra modalidade preferida, os CDRs de mais de um anticorpo anti-MAdCAM humano da invenção são misturados e emparelhados em um anticorpo quimérico. Por exemplo, um anticorpo quimérico pode compreender um CDR1 da cadeia leve de um primeiro anticorpo anti-MAdCAM humano que pode ser combinado com CDR2 e CDR3 da cadeia leve de um segundo anticorpo anti-MAdCAM humano, e o CDRs da cadeia pesada podem ser de-

rivados de um terceiro anticorpo anti-MAdCAM. Além disso, as regiões de estrutura podem ser derivadas de um dos mesmos anticorpos anti-MAdCAM, de um ou mais anticorpos diferentes, tal como um anticorpo humano, ou de um anticorpo humanizado.

5 Um "anticorpo neutralizante", "um anticorpo inibidor" ou anticorpo antagonista é um anticorpo que inibe a ligação de $\alpha_4\beta_7$ ou células expressando $\alpha_4\beta_7$, ou qualquer outro ligando cognato ou células expressando ligando cognato, a MAdCAM por pelo menos cerca de 20%. Em uma modalidade pre-
10 ferida, o anticorpo reduz ou inibe a ligação de $\alpha_4\beta_7$ integrada ou células expressando $\alpha_4\beta_7$ a MAdCAM em pelo menos 40%, mais preferivelmente antes em 60%, ainda mais preferivelmente em 80%, 85%, 90%, 95% ou 100%. A redução da ligação pode ser medida por qualquer meio conhecido por alguém de experi-
15 ência ordinária na técnica, por exemplo, como medido em um ensaio de ligação competitivo *in vitro*. Um exemplo de medição da redução da ligação de células expressando $\alpha_4\beta_7$ a MAdCAM é apresentado no Exemplo I.

Os fragmentos ou análogos de anticorpos podem ser
20 preparados facilmente por aqueles de experiência ordinária na técnica seguindo os ensinamentos desta especificação. As amino ou carbóxi terminações preferidas, de fragmentos ou análogos ocorrem próximas aos limites dos domínios funcionais. Os domínios estruturais e funcionais podem ser iden-
25 tificados por comparação dos dados da sequência de nucleotídeo e/ou aminoácido com as bases de dados da sequência do proprietário a pública. Preferivelmente, os métodos de comparação computadorizados são empregados para identificar os

motifs de sequência ou domínios de conformação de proteína preditos que ocorrem em outras proteínas de estrutura e/ou função conhecida. Os métodos para identificar as seqüências de proteína que dobram em uma estrutura tridimensional conhecida são conhecidos (Bowie e outros, Science, 253:164 (1991)).

O termo " k_{off} " se refere a constante do índice de dissociação de um anticorpo do complexo de anticorpo/antígeno.

10 O termo " K_d " se refere à constante de dissociação de uma interação de anticorpo-antígeno particular. Um anticorpo é dito ligar um antígeno quando a constante de dissociação é $\leq 1 \mu M$, preferivelmente $\leq 100 \text{ nM}$ e mais preferivelmente $\leq 10 \text{ nM}$. O termo "epítipo" inclui qualquer determinante de proteína capaz de ligação específica a uma imunoglobulina ou receptor de célula T ou de outro modo interagir com uma molécula. Os determinantes epitópicos normalmente consistem em agrupamentos de superfície quimicamente ativos de moléculas tal como aminoácidos ou cadeias laterais de

15 carboidrato e normalmente têm três características estruturais dimensionais específicas, como também características de carga específicas. Um epítipo pode ser "linear" ou "conformacional". Em um epítipo linear, todos os pontos de interação, entre a proteína e a molécula de interação (tal como um anticorpo) ocorrem linearmente ao longo da seqüência

20 de aminoácido primária da proteína. Em um epítipo conformacional, os pontos de interação ocorrem através de resíduos de aminoácido na proteína que é separada de uma outra.

25

Como empregado aqui, os vinte aminoácidos convencionais e as suas abreviações seguem uso convencional. Veja *Immunology - A Synthesis* (2ª Edição, E.S. Golub e D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)) que está
5 aqui incorporado por referência. Os estereoisômeros (por exemplo, D-aminoácidos) dos vinte aminoácidos convencionais, aminoácidos não naturais tal como aminoácidos α , α -dissubstituídos, aminoácidos de N-alquila, ácido láctico, e outros aminoácidos convencionais podem também ser componen-
10 tes adequados para polipeptídeos da presente invenção. Os exemplos de aminoácidos não convencionais incluem: 4-hidroxi-
prolina, γ -carboxiglutamato, ϵ -N,N,N-trimetilisina, ϵ -N-acetilisina, O-fosfoserina, N-acetilserina, N-formilmetionina, 3-metilistidina, 5-hidroxisilisina, s-N-
15 metilarginina, e outros aminoácidos similares e ácidos de imino (por exemplo, 4-hidroxi-
prolina). Na anotação de polipeptídeo empregada aqui, a direção à esquerda é a direção amino terminal e a direção à direita é a direção carboxi-
terminal, de acordo com a convenção e uso padrão.

20 O termo "polinucleotídeo" como referido aqui significa uma forma polimérica de nucleotídeos de pelo menos 10 bases em comprimento, ribonucleotídeos ou deoxinucleotídeos ou uma forma modificada de qualquer tipo de nucleotídeo. O termo inclui formas de filamento único ou duplo de DNA.

25 O termo "polinucleotídeo isolado" como empregado aqui deve significar um polinucleotídeo de origem genômica, cDNA, ou sintética ou algumas combinações destes, que em virtude de sua origem o "polinucleotídeo isolado" (1) não é

associado com todo ou uma porção de um polinucleotídeo no qual o "polinucleotídeo isolado" é encontrado *in nature*, (2) é operavelmente ligado a um polinucleotídeo que não está ligado *in nature*, ou (3) não ocorre *in nature* como parte de
5 uma seqüência maior.

O termo "oligonucleotídeo" referido aqui, inclui nucleotídeos de ocorrência natural e modificados, ligados juntos por ocorrência natural, e ligações de oligonucleotídeos de ocorrência não natural. Os oligonucleotídeos são um
10 subgrupo de polinucleotídeo que geralmente compreende um comprimento de 200 bases ou menos. Preferivelmente os oligonucleotídeos são 10 a 60 bases em comprimento e preferivelmente 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, ou 20 a 40 bases em comprimento. Os oligonucleotídeos são normalmente de fila-
15 mento único, por exemplo, para sondas; embora os oligonucleotídeos possam ser de filamento duplo, por exemplo, para uso na construção de um mutante de gene. Os oligonucleotídeos da invenção podem ser oligonucleotídeos de ou sentido ou anti-sentido.

20 O termo "nucleotídeos de ocorrência natural" referido aqui inclui deoxirribonucleotídeos e ribonucleotídeos. O termo "nucleotídeos modificados" referidos aqui inclui nucleotídeos com grupos de açúcar modificados ou substituídos e outros. O termo "ligações de oligonucleotídeo" referido
25 aqui inclui ligações de oligonucleotídeos tal como fosfortiotato, fosforoditioato, fosforoselenoato, fosforodiselenoato, fosforoanilotioato, fosforaniladato, fosforoamidato, e outros. Veja, por exemplo, LaPlanche e outros, Nucl. Acids

Res. 14:9081 (1986); Stec e outros, J. Am. Chem. Soc. 106:6077(1984); Stein e outros, Nucl. Acids Res., 16:3209(1988); Zon e outros, Anti-Cancer Drug Design 6:539(1991); Zon e outros, Oligonucleotides and Analogues: A
 5 Practical Approach, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England(1991)); Stec e outros, Patente U.S. No. 5.151.510; Uhlmann e Peyman, Chemical Reviews, 90:543(1990), as descrições das quais desse modo incorporadas por referência. Um oligonucleotídeo pode incluir um
 10 rótulo para detecção, se desejado.

Seqüências "operavelmente ligadas" incluem ambas as seqüências de controle de expressão que são contíguas com o gene de interesse e seqüências de controle de expressão que agem em trans ou a uma distância para controlar o gene
 15 de interesse. O termo "seqüência de controle de expressão" como empregado aqui se refere às seqüências de polinucleotídeo que são necessárias para efetuar a expressão e processando de seqüências de codificação às quais eles estão ligados. As seqüências de controle de expressão incluem seqüên-
 20 cias de iniciação, terminação, promotoras e realçadoras de transcrição apropriadas; sinais de processamento de RNA eficiente tal como sinais de união e poliadenilação; seqüências que estabilizam o mRNA citoplásmico; seqüências que realçam a eficiência de translação (isto é, seqüência de consenso
 25 Kozak); seqüências que realçam a estabilidade de proteína; e quando desejado, seqüências que realçam a secreção de proteína. A natureza de tais seqüências de controle difere dependendo do organismo hospedeiro; em procariotas, tais se-

quências de controle geralmente incluem promotor, sítio de ligação ribossômica, e sequência de terminação de transcrição; em eucariotas, geralmente, tais sequências de controle incluem os promotores e sequência de terminação de transcri-
5 ção. O termo "sequências de controle" é pretendido incluir, a um mínimo, todos os componentes cuja presença é essencial para expressão e processando, e também pode incluir componentes adicionais cuja presença é vantajosa, por exemplo, sequências condutoras e sequências de par de fusão.

10 O termo "vetor", como empregado aqui, é pretendido referir-se a uma molécula de ácido nucléico capaz de transportar outro ácido nucléico ao qual ela está ligada. Um tipo de vetor é um "plasmídeo", que se refere a uma alça de ADN de filamento duplo circular na qual os segmentos de DNA
15 adicionais podem ser ligados. Outro tipo de vetor é um vetor viral, onde os segmentos de DNA adicionais podem ser ligados no genoma viral. Certos vetores são capazes de replicação autônoma em uma célula hospedeira na qual eles são introduzidos (por exemplo, vetores bacterianos tendo uma ori-
20 gem bacteriana de vetores de mamífero epissômicos e de replicação). Outros vetores (por exemplo, vetores de mamíferos não epissômicos) podem ser integrados no genoma de uma célula hospedeira sob introdução na célula hospedeira, e desse modo são replicados junto com o genoma hospedeiro.
25 Além disso, certos vetores são capazes de direcionar a expressão de genes aos quais eles estão operativamente ligados. Tais vetores são referidos aqui como "vetores de expressão recombinante" (ou simplesmente, "vetores de expres-

são"). Em geral, os vetores de expressão de utilidade em técnicas de DNA recombinante estão freqüentemente na forma de plasmídeos. Na presente especificação, "plasmídeo" e "vetor" podem ser empregados alternadamente uma vez que o
5 plasmídeo é a forma mais comumente empregada de vetor. Entretanto, a invenção é pretendida incluir tais outras formas de vetores de expressão, tal como vetores virais (por exemplo, retrovirus defeituoso de replicação, adenovírus e adenovírus associado), que exerçam funções equivalentes.

10 O termo "célula hospedeira recombinante" (ou simplesmente "célula hospedeira"), como empregado aqui, é pretendido se referir a uma célula na qual um vetor de expressão recombinante tenha sido introduzido. Deveria ser entendido que tais termos são pretendidos referir não somente à
15 célula objetivo particular, porém à progênie de uma tal célula. Porque certas modificações podem ocorrer em gerações sucessivas devido à mutação ou influências ambientais, tal progênie não pode, na realidade, ser idêntico à célula de origem, porém ainda é incluída dentro do escopo do termo
20 "célula hospedeira" como empregado aqui.

O termo "seletivamente hibridizar" referido aqui significa meios para detectavelmente e especificamente unir. Os polinucleotídeos, oligonucleotídeos e fragmentos destes de acordo com a invenção, hibridizam para filamentos de ácido
25 do nucléico sob condições de lavagem e hibridização que minimizam as quantidades apreciáveis de ligação detectável aos ácidos nucléicos não específicos. "Rigorosidade elevada" ou condições "altamente rigorosas" podem ser empregadas para

alcançar as condições de hibridização seletiva como conhecido na técnica e descrito aqui. Um exemplo de "rigoridade elevada" ou condições "altamente rigorosas" é um método para incubar um polinucleotídeo com outro polinucleotídeo, onde um
5 polinucleotídeo pode ser anexado a uma superfície sólida tal como uma membrana, em um tampão de hibridização de 6X de SSPE ou SSC, 50% de formamida, 5X de reagente de Denhardt, 0,5% de SDS, 100 µg/ml de DNA de esperma de salmão desnaturado, fragmentado a uma temperatura de hibridização de 42°C
10 durante 12-16 horas, em seguida lavando-se duas vezes a 55°C empregando um tampão de lavagem de 1X de SSC, 0,5% de SDS. Também veja, Sambrook e outros, supra, pp. 9,50-9,55.

O termo "percentual da identidade de sequência" no contexto de sequências de nucleotídeo se refere aos resíduos
15 em duas sequências que são iguais quando alinhados para correspondência máxima. O comprimento de comparação de identidade de sequência pode estar acima de uma extensão de pelo menos cerca de nove nucleotídeos, normalmente pelo menos cerca de 18 nucleotídeos, mais normalmente pelo menos cerca
20 de 24 nucleotídeos, tipicamente pelo menos cerca de 28 nucleotídeos, mais tipicamente pelo menos cerca de 32 nucleotídeos, e preferivelmente pelo menos cerca de 36, 48 ou mais nucleotídeos. Há vários algoritmos diferentes conhecidos na arte que podem ser empregados para medir identidade de se-
25 quência de nucleotídeo. Por exemplo, as sequências de polinucleotídeo podem ser comparadas empregando FASTA, Gap ou Bestfit que são programas em Wisconsin Package Versão 10.3, Accelrys, San Diego, CA. FASTA, que inclui, por exemplo, os

programas FASTA2 e FASTA3, fornecem alinhamentos e percentual de identidade de sequência das regiões do melhor sobreposição entre as sequências de indagação e de pesquisa (Pearson, *Methods Enzymol.*, 183: 63-98 (1990); Pearson, *Methods MoI. Biol.*, 132: 185-219 (2000); Pearson, *Methods Enzymol.*, 266: 227- 258 (1996); Pearson, *J. Mo/. Biol.*, 276: 71-84 (1998); aqui incorporados por referência). A menos que de outro modo especificado, os parâmetros *default* para um programa particular ou algoritmo são empregados. Por exemplo, o percentual de identidade de sequência entre sequências de nucleotídeo pode ser determinado empregando FASTA com seus parâmetros *default* (um tamanho de palavra de 6 e o fator NOPAM para a matriz de classificação) ou empregando Gap com seus parâmetros *default* quando fornecido em Wisconsin Package Versão 10.3, aqui incorporado por referência.

Uma referência para uma sequência de nucleotídeo abrange seu complemento a menos que de outro modo especificado. Desse modo, uma referência para uma molécula de ácido nucléico que tem uma sequência particular deveria ser entendida abranger seu filamento complementar, com sua sequência complementar.

Na técnica de biologia molecular, os pesquisadores usam os termos "percentual de identidade de sequência", "percentual de similaridade de sequência" e "percentual de homologia de sequência" alternadamente. Nesta pedido, estes termos devem ter o mesmo significado com respeito às sequências de nucleotídeo somente.

O termo "similaridade substancial" ou "similarida-

de de seqüência substancial", quando se referindo a um ácido nucléico ou fragmento deste, indica que, quando otimamente alinhados com inserções ou deleções de nucleotídeo apropriadas com outro ácido nucléico (ou seu filamento complementar), há identidade de seqüência de nucleotídeo em pelo menos cerca de 85%, preferivelmente pelo menos cerca de 90%, e mais preferivelmente pelo menos cerca de 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% das bases de nucleotídeo, quando medido por qualquer algoritmo bem conhecido de identidade de seqüência, tal como FASTA, BALST ou Gap, como descrito acima.

Como aplicado aos polipeptídeos, o termo "identidade substancial" significa que duas seqüências de peptídeo, quando idealmente alinhadas, tal como pelos programas GAP ou BESTFIT empregando pesos de abertura *default*, compartilham pelo menos 75% ou 80% de identidade de seqüência, preferivelmente pelo menos 90% ou 95% de identidade de seqüência, ainda mais preferivelmente pelo menos 98% ou 99% de identidade de seqüência. Preferivelmente, as posições de resíduo que não são idênticas diferem por substituições de aminoácido conservadoras. Uma "substituição de aminoácido conservadora" é uma na qual um resíduo de aminoácido é substituído por outro resíduo de aminoácido que tem uma cadeia lateral (grupo R) com propriedades químicas similares (por exemplo, carga ou hidrofobicidade). Em geral, uma substituição de aminoácido conservadora substancialmente não alterará as propriedades funcionais de uma proteína. Em casos onde duas ou mais seqüências de aminoácido diferem uma da outra por substituições conservadoras, o percentual de identidade de

seqüência ou grau de similaridade pode ser ajustado para cima para corrigir quanto à natureza conservadora da substituição. Os meios de fazer este ajuste são bem conhecidos por aqueles de experiência na técnica. Veja, por exemplo, Pearson, *Methods Mol. Biol.*, 24: 307-31 (1994), aqui incorporado por referência. Os exemplos de grupos de aminoácidos que têm cadeias laterais com propriedades químicas similares incluem 1) cadeias laterais alifáticas: glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; 2) cadeias laterais de hidroxila alifática: serina e treonina; 3) cadeias laterais contendo amida: asparagina e glutamina; 4) correntes laterais aromáticas: fenilalanina, tirosina, e triptofan; 5) correntes laterais básicas: lisina, arginina, e histidina; e 6) cadeias laterais contendo enxofre são cisteína e metionina. Os grupos de substituição de aminoácidos conservadores preferidos são: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato, e asparagina-glutamina.

Alternativamente, uma substituição conservadora é qualquer alteração que tem um valor positivo na matriz de probabilidade de log PAM250 descrita em Gonnet e outros, *Science*, 256: 1443-45 (1992), aqui incorporado por referência. Uma substituição "moderadamente conservadora" é qualquer alteração que tem um valor não negativo na matriz de probabilidade de log PAM250.

A similaridade de seqüência para polipeptídeos é tipicamente medida empregando software de análise de seqüência. O software de análise de proteína compara seqüências

similares empregando medições de similaridade designadas para várias substituições, deleções e outras modificações, incluindo substituições de aminoácido conservadoras. Por exemplo, GCG contém programas tal como "Gap" e "Bestfit" que
5 podem ser empregados com parâmetros default para determinar a homologia de sequência ou identidade de sequência entre os polipeptídeos intimamente relacionados, tal como polipeptídeos homólogos de espécies diferentes de organismos ou entre uma proteína tipo silvestre e uma muteína desta. Veja, por
10 exemplo, Wisconsin package Versão 10.3. As sequências de polipeptídeo também podem ser comparadas empregando FASTA empregando parâmetros *default* ou recomendados, um programa Wisconsin package Versão 10.3. FASTA (por exemplo, FASTA2 e FAST A3) fornece alinhamentos e percentual de identidade de
15 sequência das regiões de melhor sobreposição entre as sequências de indagação e de pesquisa (Pearson (1990); Pearson (2000)). Outro algoritmo preferido quando comparando uma sequência da invenção a um banco de dados que contém um número grande de sequências de organismos diferentes é o programa
20 de computador BLAST, especialmente blastp ou tblastn, empregando os parâmetros *default*. Veja, por exemplo, Altschul e outros, J. Mol. Biol. 215: 403-410 (1990); Altschul e outros, Nucleic Acids Res. 25:3389-402 (1997); aqui incorporado por referência.

25 O comprimento de sequências de polipeptídeo comparadas com homologia geralmente será pelo menos cerca de 16 resíduos de aminoácido, normalmente pelo menos cerca de 20 resíduos, mais normalmente pelo menos cerca de 24 resíduos,

tipicamente pelo menos cerca de 28 resíduos, e mais preferi-
velmente de cerca de 35 resíduos. Ao procurar um banco de
dados que contém seqüências de um número grande de organis-
mos diferentes, é preferível comparar seqüências de aminoá-
5 cido.

Como empregado aqui, os termos "rótulo" ou "rotu-
lado" se referem a incorporação de outra molécula no anti-
corpo. Em uma modalidade, o rótulo é um marcador detectá-
vel, por exemplo, incorporação de um aminoácido radiorrotu-
10 lado ou ligação a um polipeptídeo de frações de biotinila
que podem ser detectadas por avidina marcada (por exemplo,
estreptavidina que contém um marcador fluorescente ou ativi-
dade enzimática que pode ser detectada através de métodos
ópticos ou colorimétricos). Em outra modalidade, o rótulo
15 ou marcador pode ser terapêutico, por exemplo, uma toxina ou
droga conjugada. Os vários métodos de rotulação de polipep-
tídeos e glicoproteínas são conhecidos na técnica e podem
ser empregados. Os exemplos de rótulos para polipeptídeos
incluem, porém não estão limitados aos seguintes: radioisó-
20 topos ou radionuclídeos (por exemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y ,
 ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), rótulos fluorescentes (por exemplo,
FITC, rodamina, fósforos de lantanídeo), rótulos enzimáti-
cos (por exemplo, rábano picante peroxidase, β -
galactosidase, luciferase, alcalina fosfatase), marcadores
25 quimioluminescentes, grupos de biotinila, epítomos de poli-
peptídeo predeterminado reconhecido por um repórter secundá-
rio (por exemplo, seqüências de par de zíper de leucina, sí-
tios de ligação para anticorpos secundários, domínios de li-

gação de metal, rótulos de epítopo), agentes magnéticos, tal como quelados de gadolínio, toxinas tal como toxina de coqueluxe, taxol, citocalasina B, gramicidina D, brometo de etídio, emetina, mitomicina, etoposídeo, tenoposídeo, vincristina, vinblastina, colquicina, doxorubicina, daunorubicina, diona de antracina de diidróxi, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-deidrotestosterona, glicocorticóide, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol, e puromicina e análogos ou homólogos destes. Em algumas modalidades, os

5

10

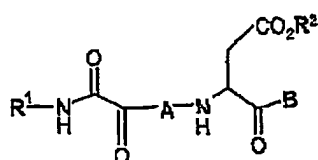
rótulos são fixos por braços espaçadores de vários comprimentos para reduzir o impedimento estérico potencial.

REIVINDICAÇÕES

1. Combinação de um anticorpo monoclonal anti-MAdCAM ou porção de ligação de antígeno deste, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser com um agente antifibrótico.

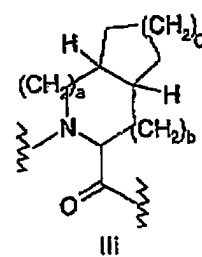
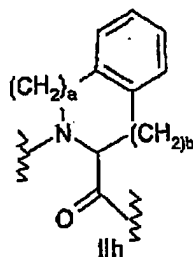
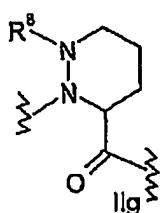
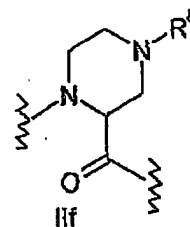
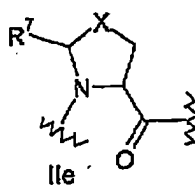
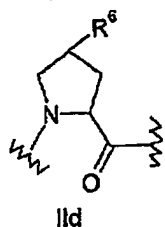
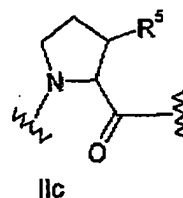
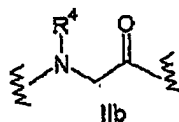
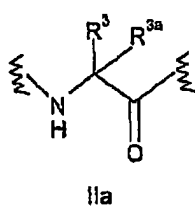
5 2. Combinação, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o agente antifibrótico é um inibidor de caspase.

3. Combinação, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o inibidor de caspase é um
10 composto de fórmula I:

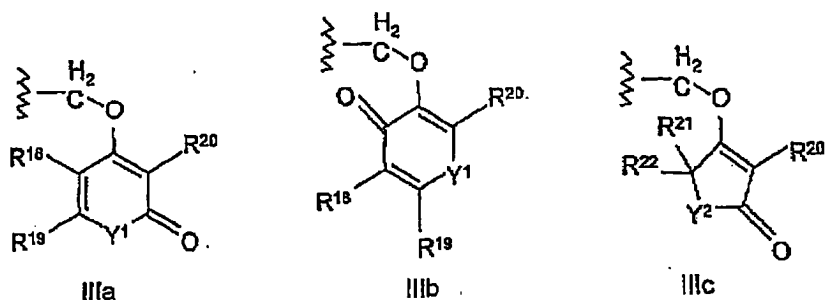


Fórmula I

Onde A é um aminoácido natural ou não natural de
Fórmula IIa-i:



B é um átomo de hidrogênio, um átomo de deutério, alquila, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, naftila substituída, 2-benzoxazolila, 2-oxazolila substituída, $(CH_2)_n$ -cicloalquila, $(CH_2)_n$ -fenila, $(CH_2)_n$ -(fenila substituída), $(CH_2)_n$ -(1 ou 2-naftila), $(CH_2)_n$ -(1 ou 2-naftila substituída), $(CH_2)_n$ -(heteroarila), $(CH_2)_n$ -(heteroarila substituída), halometila, CO_2R^{12} , $CONR^{13}R^{14}$, CH_2ZR^{15} , $CH_2OCO(arila)$, $CH_2OCO(heteroarila)$, ou $CH_2OPO(R^{16})R^{17}$, onde Z é um átomo de enxofre ou oxigênio, ou B é um grupo de Fórmula IIIa-c:



R^1 é alquila, cicloalquila, (cicloalquila)alquila, fenila, fenila substituída, fenilalquila, fenilalquila substituída, naftila, naftila substituída, (1 ou 2 naftila)alquila, (1 ou 2 naftila)alquila substituída, heteroarila, heteroarila substituída, (heteroarila)alquila, (heteroarila)alquila substituída, $R^{1a}(R^{1b})N$, ou $R^{1c}O$; e

R^2 é hidrogênio, alquila inferior, cicloalquila, (cicloalquila)alquila, fenila, fenila substituída, fenilalquila, fenilalquila substituída, naftila, naftila substituída, (1 ou 2 naftila)alquila, ou (1 ou 2-naftila)alquila substituída;

E onde:

R^{1a} e R^{1b} são independentemente hidrogênio, alqui-

la, cicloalquila, (cicloalquila)alquila, fenila, fenila substituída, fenilalquila, fenilalquila substituída, naftila, naftila substituída, (1 ou 2-naftila)alquila, (1 ou 2-naftila)alquila substituída, heteroarila, heteroarila substituída, (heteroarila)alquila, ou (heteroarila)alquila substituída, com a condição de que R^{1a} e R^{1b} não possam ambos ser hidrogênio;

R^{1c} é alquila, cicloalquila, (cicloalquila)alquila, fenila, fenila substituída, fenilalquila, fenilalquila substituída, naftila, naftila substituída, (1 ou 2-naftila)alquila, (1 ou 2-naftila)alquila substituída, heteroarila, heteroarila substituída, (heteroarila)alquila, ou (heteroarila)alquila substituída;

R^3 é C_{1-6} alquila, cicloalquila, fenila, fenila substituída, $(CH_2)_nNH_2$, $(CH_2)NHCOR^9$, $(CH_2)_nN(C=NH)NH_2$, $(CH_2)_mCO_2R^2$, $(CH_2)_mOR^{10}$, $(CH_2)_mSR^{11}$, $(CH_2)_ncicloalquila$, $(CH_2)_nfenila$, $(CH_2)_n(fenila substituída)$, $(CH_2)_n(1 ou 2-naftila)$ ou $(CH_2)_n(heteroarila)$, onde heteroarila inclui piridila, tienila, furila, tiazolila, imidazolila, pirazolila, isoxazolila, pirazinila, pirimidila, triazinila, tetrazolila, e indolila;

R^{3a} é hidrogênio ou metila, ou R^3 e R^{3a} considerados juntos são $-(CH_2)_d-$ onde d é um número inteiro de 2 a 6;

R^4 é fenila, fenila substituída, $(CH_2)_mfenila$, $(CH_2)_m(fenila substituída)$, cicloalquila, ou cicloalquila de benzo-fundido;

R^5 é hidrogênio, alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, $(CH_2)_ncicloalquila$, $(CH_2)_nfenila$,

$(CH_2)_n$ (fenila substituída), ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila);

R^6 é hidrogênio, flúor, oxo, alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída),
5 $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila), OR^{10} , SR^{11} , ou $NHCOR^9$;

R^7 é hidrogênio, oxo (isto é $=O$), alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída),
ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila);

10 R^8 é alquila inferior, cicloalquila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), $(CH_2)_n$ (1 ou 2 - naftila), ou COR^9 ;

R^9 é hidrogênio, alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, $(CH_2)_n$ cicloalquila,
15 $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila), OR^{12} , ou $NR^{13}R^{14}$;

R^{10} é hidrogênio, alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila);

R^{11} é alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída), ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila);

R^{12} é alquila inferior, cicloalquila, $(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída),
25 ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2 - naftila);

R^{13} é hidrogênio, alquila inferior, cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, naftila substituído,

$(CH_2)_n$ cicloalquila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída),
ou $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila);

R^{14} é hidrogênio ou alquila inferior; ou

R^{13} e R^{14} considerado junto formam um anel de cinco
5 a sete membros de carbocíclico ou heterocíclico, tal como
morfolina, ou piperazina N-substituída;

R^{15} é fenila, fenila substituída, naftila, naftila
substituída, heteroarila, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substi-
tuída), $(CH_2)_n$ (1 ou 2-naftila), ou $(CH_2)_n$ (heteroarila);

10 R^{16} ou R^{17} são independentemente alquila inferior,
cicloalquila, fenila, fenila substituída, naftila, fenilal-
quila, fenilalquila substituída, ou (cicloalquila)alquila;

R^{18} e R^{19} são independentemente hidrogênio, alqui-
la, fenila, fenila substituída, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila
15 substituída), ou R^{18} e R^{19} considerados juntos são $-(CH=CH)_2-$;

R^{20} é hidrogênio, alquila, fenila, fenila substitu-
ída, $(CH_2)_n$ fenila, $(CH_2)_n$ (fenila substituída);

R^{21} , R^{22} e R^{23} são independentemente hidrogênio, ou
alquila;

X é CH_2 , $(CH_2)_2$, $(CH_2)_3$, ou S;

Y^1 é O ou NR^{23} ;

Y^2 é CH_2 , O, ou NR^{23} ;

a é 0 ou 1 e b é 1 ou 2, desde que quando a for 1
então b seja 1;

25 c é 1 ou 2, desde que quando c for 1 então a seja
0 e b seja 1;

m é 1 ou 2; e

n é 1, 2, 3, ou 4;

4. Combinação, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o composto de fórmula I é selecionado do seguinte grupo de compostos:

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-
Clorofenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-
Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Fluorfenil)Oxamil)Valinil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

20 ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-Antril)Oxamil) Vali-
nil]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

25 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-Trifluormetilfenil)Oxamilo)Alaninilo]Amino-5-(2',3',5',6'-Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2,6-

Difluorfenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-
Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(1-

Naftila)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-

5 Tetrafluorfenóxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(4-

Metoxifenil)Oxamil)Alaninil]Amino-5-(2',3',5',6'-

Tetrafluorfenoxi)-4-Oxopentanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

10 Trifluormetilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-

Butilmetilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

Benzilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico;

15 ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-

Fenilfenil)Oxamil)Valinil]Amino-4-Oxobutanóico.

5. Combinação, de acordo com quaisquer das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o anticorpo anti-MAdCAM ou porção de ligação de antígeno deste é
20 um anticorpo monoclonal humano ou porção de ligação de antígeno.

6. Combinação, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o anticorpo ou porção possui pelo menos uma das seguintes propriedades:

25 (a) se liga às células humanas;

(b) tem uma seletividade para MAdCAM sob VCAM ou fibronectina de pelo menos 100 vezes;

(c) se liga à MAdCAM humana com um Kd de 3×10^{-10}

M ou menos; ou

(d) inibe a ligação de células de expressão de $\alpha_4\beta_7$ à MAdCAM humana.

(e) inibe a convocação de linfócitos para tecido
5 linfóide gastrointestinal.

7. Combinação, de acordo com quaisquer das reivindicações 5 ou 6, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o referido anticorpo ou porção de ligação de antígeno inibe a ligação de MAdCAM humana a $\alpha_4\beta_7$, e onde o anticorpo ou porção de li-
10 gação de antígeno destes tem pelo menos uma das propriedades seguintes:

(a) competição cruzada com um anticorpo de referência para ligação à MAdCAM;

(b) competição com um anticorpo de referência para
15 ligação à MAdCAM;

(c) ligação ao mesmo epítipo de MAdCAM como um anticorpo de referência;

(d) ligação à MAdCAM com substancialmente o mesmo K_d como um anticorpo de referência;

(e) ligação à MAdCAM com substancialmente a mesma
20 taxa como um anticorpo de referência;

onde o anticorpo de referência é selecionado do grupo consistindo em: anticorpo monoclonal 1.7.2, anticorpo monoclonal 1.8.2, anticorpo monoclonal 6.14.2, anticorpo monoclonal 6.22.2, anticorpo monoclonal 6.34.2, anticorpo monoclonal 6.67.1, anticorpo monoclonal 6,73,2, anticorpo monoclonal 6.77.1, anticorpo monoclonal 7.16.6, anticorpo monoclonal 7.20.5, anticorpo monoclonal 7.26.4, anticorpo mo-

noclonal 9.8.2, anticorpo monoclonal 6.22.2-mod, anticorpo monoclonal 6.34.2-mod, anticorpo monoclonal 6.67.1-mod, anticorpo monoclonal 6.77.1-mod e anticorpo monoclonal 7.26.4-mod.

5 8. Combinação, de acordo com quaisquer das reivindicações 5 a 7, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou uma porção de ligação de antígeno deste é selecionado dos seguintes anticorpos:

10 (a) a cadeia pesada compreende as seqüências de aminoácido CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de um anticorpo de referência selecionado do grupo consistindo em 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod, 6.77.1-mod e 7.26.4-mod

15 (b) a cadeia leve compreende as seqüências de aminoácido CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve de um anticorpo de referência selecionado do grupo consistindo em 1.7.2, 1.8.2, 6.14.2, 6.22.2, 6.34.2, 6.67.1, 6.73.2, 6.77.1, 7.16.6, 7.20.5, 7.26.4, 9.8.2, 6.22.2-mod, 6.34.2-mod, 6.67.1-mod,
20 6.77.1-mod e 7.26.4-mod

 (c) o anticorpo compreende uma cadeia pesada de (a) e uma cadeia leve de (b), e

 (d) o anticorpo de (c) onde as seqüências de aminoácido CDR de cadeia pesada e cadeia leve são selecionadas
25 do mesmo anticorpo de referência.

 9. Combinação, de acordo com quaisquer reivindicações 2 a 4, **CARACTERIZADA** pelo fato de ser de um anticorpo de integrina anti- $\alpha 4\beta 7$ ou porção de ligação de antígeno des-

te com um inibidor de caspase.

10. Uso da combinação, conforme definida em quaisquer das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser para fabricação de um medicamento para o tratamento
5 de fibrose hepática.

11. Uso, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a fibrose hepática é fibrose hepática associada a Hepatite C, doença do fígado alcoólica ou esteatoepatite não alcoólica.

10 12. Composição farmacêutica da combinação, conforme definida em qualquer das reivindicações 1 a 9, **CARACTERIZADA** pelo fato de ser com excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

RESUMO

"COMBINAÇÃO DE ANTICORPO ANTI-MADCAM E INIBIDOR DE CASPASE ANTIFIBRÓTICA PARA TRATAR FIBROSE HEPÁTICA"

A invenção se refere a uma combinação de um anti-
5 corpo anti-MAdCAM com agente antifibrótico, tal como um inibidor de protease, preferivelmente um inibidor de caspase. A invenção também se refere a composições farmacêuticas compreendendo a combinação da invenção, e o uso da combinação para o tratamento de fibrose hepática.