



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

(21) **PI 0711823-6 A2**

(22) Data de Depósito: 15/05/2007  
(43) Data da Publicação: 17/01/2012  
(RPI 2141)



(51) *Int.Cl.:*  
A61K 38/00  
A61P 19/02

(54) **Título:** MÉTODOS PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS AUTO-IMUNES COM UMA MOLÉCULA DE FUSÃO TACI-IG

(30) **Prioridade Unionista:** 15/05/2006 US 60/747,,270

(73) **Titular(es):** Ares Trading S.A., Zymogenetics, Inc

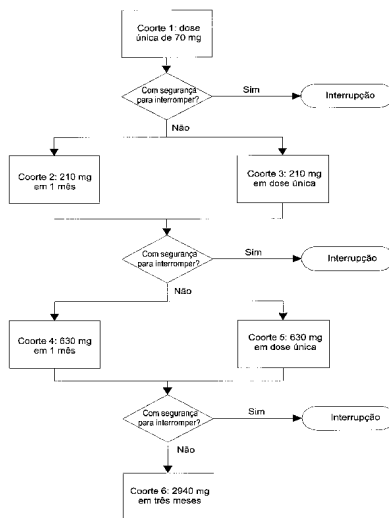
(72) **Inventor(es):** Herve Broly, Ivan Nestorov, Jane Gross, Jennifer Visich, Sharon Busby

(74) **Procurador(es):** Dannemann ,Siemens, Bigler & Ipanema Moreira

(86) **Pedido Internacional:** PCT US2007068982 de 15/05/2007

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/134326de 22/11/2007

(57) **Resumo:** MÉTODOS PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS AUTO-IMUNES COM UMA MOLÉCULA DE FUSÃO TACI-IG. Em várias concretizações, a presente invenção provê métodos e composições para tratamento de doenças auto-imunes, incluindo artrite reumatóide, por exemplo, compreendendo a administração para um paciente, em necessidade deste tratamento, de uma molécula de fusão TACI-Ig. Em uma concretização, a molécula de fusão TACI-Ig é administrada em quantidade suficiente para retardar, suprimir ou inibir funções induzidas por proliferação de BlyS e APRIL.





Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**MÉTODOS PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS AUTO-IMUNES COM UMA MOLÉCULA DE FUSÃO TACI-IG**".

Referência cruzada a pedidos de patente correlatos

- 5                Este pedido de patente reivindica o benefício do pedido U.S. Provisional No. 60/747 270, depositado em 15 de maio de 2006, cujo conteúdo é aqui incorporado por referência neste pedido de patente.

Campo da invenção

- 10            Em várias concretizações, a presente invenção refere-se a métodos e composições para o tratamento de doenças ou distúrbios auto-imunes do sistema imune, compreendendo a administração de uma proteína de fusão TACI-Ig que bloqueia funções de fatores de crescimento pertencentes à família de TNF.

Antecedentes da invenção

- 15    Família de Ligantes/Receptores de BlyS

- Foram identificados três receptores, TACI (ativador transmembrânico ou ligante que interage com ciclofilina, moduladora de cálcio), BCMA (antígeno de maturação de células B) e BAFF-R (receptor de fator de ativação de células B, pertencente à família de TNF), que possuem afinidades de
- 20    ligação únicas para os dois fatores de crescimento, BlyS (estimulador de linfócitos B) e APRIL (ligante indutor de proliferação) (Marsters *et al.*, *Curr Biol* 2000; 10(13):785-788; Thompson *et al.*, *Science* 2001; 293:2108-2111). TACI e BCMA ligam-se a BlyS e a APRIL, enquanto que BAFF-R parece ser capaz de ligar-se somente a BlyS com alta afinidade (Marsters *et al.*, *Curr*
- 25    *Biol* 2000; 10(13):785-788; Thompson *et al.*, *Science* 2001; 293:2108-2111). Conseqüentemente, BlyS é capaz de sinalizar através de todos estes três receptores, enquanto que APRIL parece somente ser capaz de sinalização através de TACI e de BCMA. Além disso, complexos heterotriméricos circulantes, formados por BlyS e APRIL (agrupamentos de três proteínas, con-
- 30    tendo, cada um, uma ou duas cópias de BlyS e APRIL) foram identificados em amostras de soro de pacientes com doenças reumáticas de natureza imune sistêmica, cuja indução de proliferação de células B, foi demonstrada

*in vitro* (Roschke *et al.*, *J Immuno1* 2002; 169: 4314-4321). Entre as proteínas de fusão de Ig, de todos os três receptores, somente TACI-Fc5 foi capaz de bloquear a atividade biológica dos complexos heterotriméricos (Roschke *et al.*, *J Immuno1* 2002; 169:4314-4321).

- 5 BLYS e APRIL são potentes estimuladores da maturação, proliferação e sobrevivência de células B (Gross *et al.*, *Nature* 2000, 404:995-999; Gross *et al.*, *Immunity* 2001, 15(2):289-302; Groom *et al.*, *J Clin Invest* 2002, 109(1):59-68). É possível que a participação de BLYS e APRIL seja necessária para persistência de doenças auto-imunes, especialmente aquelas envolvendo células B. Camundongos transgênicos construídos para expressarem altos níveis de BLYS exibem distúrbios imunes celulares e apresentam sintomas semelhantes aos que são observados em pacientes portadores de Lupus Eritematoso Sistêmico (Cheson *et al.*, *Revised guidelines for diagnosis and treatment*, *Blood* 1996, 87:4990-4997; Cheema *et al.*, *Arthritis Rheum* 2001; 44(6):1313-1319). Da mesma forma, foram medidos níveis aumentados de BLYS/APRIL em amostras de soro coletadas de pacientes portadores de LES e de outros pacientes com diversas doenças auto-imunes, como Artrite Reumatóide (Roschke *et al.*, *J Immuno1* 2002; 169:4314-4321; Mariette X., *Ann Rheum Dis* 2003; 62(2):168-171; Hahne *et al.*, *J Exp Med* 1998; 188(6):1185-1190), ampliando a associação entre BLYS e/ou APRIL e doenças mediadas por células B de modelos animais a humanos.

#### Artrite Reumatóide

- Artrite Reumatóide (AR) é uma doença inflamatória crônica caracterizada por inflamação não específica, geralmente simétrica, das articulações periféricas, com potencial para destruição progressiva das estruturas articulares e periarticulares. Esta doença afeta aproximadamente 1% da população, sendo que em mulheres é a sua incidência é de duas a três vezes mais freqüente do que em homens. Embora a etiologia precisa da doença não seja ainda conhecida, existem fortes evidências sugerindo que AR é uma doença auto-imune. Vários auto-anticorpos estão associados com AR, incluindo o fator reumatóide (RF), freqüentemente associado à forma de doença mais grave, fatores anti-nucleares e anticorpos contra colágeno nativo

do tipo II e peptídeos citrulinados.

Anomalias imunológicas, que se destacam e que podem ser importantes na patogênese de AR, incluem a presença de complexos imunes em células de líquidos articulares e em vasculite. Anticorpos (como FR), produzidos por células plasmáticas e células T *helper* (auxiliares) que infiltram o tecido sinovial e que podem produzir citocinas pró-inflamatórias, contribuem para a formação destes complexos. A presença de macrófagos e de suas citocinas (por exemplo, TNF, GMCS-F) é também abundante na estrutura sinovial acometida pela doença. Níveis aumentados de moléculas adesivas contribuem para a emigração das células inflamatórias e retenção no tecido sinovial. Células de revestimento aumentadas, derivadas de macrófagos, são também proeminentes, juntamente com linfócitos.

O papel das células T na patogênese de AR é bem estabelecido, enquanto que o das células B é menos conhecido. Não obstante, as células B desempenham muitos possíveis papéis na patogênese de AR, inclusive atuando como células apresentadoras de antígeno, secretando citocinas pró-inflamatórias, produzindo auto-anticorpo como o fator reumatóide e ativando as células T. A possível participação das células B é ainda apoiada pelos resultados positivos de estudos clínicos nos quais foram realizados testes com rituximab, um anticorpo monoclonal direcionado contra CD20, em pacientes com AR, mais notadamente quando fornecido em combinação com metotrexato ou ciclofosfamida. Esses achados sugerem que as células B são alvos apropriados para intervenção terapêutica em AR.

Tratamentos estabelecidos de AR incluem fármacos anti-reumáticos modificadores da doença (DMARD), como hidroxicloroquina, sulfasalazina, metotrexato, leflunomida, rituximab, infliximab, azatioprina, D-penicilamina, ouro (oral ou intramuscular), minociclina e ciclosporina, e corticóides, como prednisona e fármacos antiinflamatórios não esteroidais (NSAIDS). Estes tratamentos são geralmente não específicos, frequentemente associados com efeitos colaterais sérios e não afetam significativamente a destruição progressiva de articulações. Conseqüentemente, há necessidade longamente sentida na técnica pelo desenvolvimento de novos

métodos para tratamento de AR.

#### Resumo da invenção

Em várias concretizações, a presente invenção é direcionada a métodos de tratamento de doenças auto-imunes. A título de ilustração, os métodos da invenção incluem a administração para um paciente de uma composição, compreendendo um domínio constante de imunoglobulina humana e o domínio extracelular de TACI, ou fragmento deste, que se ligam a BlyS e/ou APRIL.

Em outra concretização, a invenção compreende métodos de tratamento de doenças auto-imunes, inclusive de AR, utilizando uma molécula de fusão TACI-Ig que compreende o domínio extracelular de TACI, ou qualquer fragmento deste, que retém a capacidade de se ligar a BlyS e/ou APRIL.

Em uma outra concretização, a invenção compreende métodos de tratamento de AR, compreendendo a administração para um paciente em necessidade do mesmo de uma quantidade efetiva de uma molécula de fusão, compreendendo uma cadeia constante de imunoglobulina humana e o domínio extracelular de TACI, ou fragmento deste, que se liga a BlyS e/ou APRIL. Em uma concretização, o fragmento do domínio extracelular de TACI compreende um ou dois motivos repetidos de cisteína. Em outra concretização, o fragmento compreende os aminoácidos 30-110 do domínio extracelular de TACI. Em ainda uma outra concretização, o fragmento compreende os aminoácidos 1-154 do domínio extracelular de TACI (SEQ ID NO: 1).

Em uma outra concretização, a invenção compreende métodos de tratamento de AR pela administração para um paciente de uma composição, contendo um polipeptídeo de fusão, TACI-Fc5, compreendendo um domínio constante de imunoglobulina humana, Fc5, com a seqüência especificada como SEQ ID NO: 2, e um domínio extracelular de TACI com a seqüência especificada como SEQ ID NO: 1.

Em ainda uma outra concretização, a invenção compreende métodos de tratamento de AR pela administração para um paciente de uma composição, contendo um polipeptídeo de fusão, compreendendo um domí-

nio constante de imunoglobulina humana com a seqüência especificada como SEQ ID NO: 2 e um polipeptídeo que se liga a BlyS e/ou APRIL e que é, pelo menos, aproximadamente 50%, pelo menos, aproximadamente 60%, pelo menos, aproximadamente 65%, pelo menos, aproximadamente 70%,  
5 pelo menos, aproximadamente 75%, pelo menos, aproximadamente 80%, pelo menos, aproximadamente 85%, pelo menos, aproximadamente 90%, pelo menos, aproximadamente 95% ou pelo menos, aproximadamente 99% idêntico à SEQ ID NO: 1.

Outras doenças auto-imunes podem ser tratadas pelos métodos da invenção pela administração para um paciente de um polipeptídeo de fusão, compreendendo uma cadeia constante de imunoglobulina humana e o domínio extracelular de TACI, ou fragmento do domínio extracelular de TACI que se liga a BlyS e/ou APRIL. Estas doenças auto-imunes incluem, entre  
10 outras, lupus eritematoso sistêmico (LES), doença de Graves, diabetes tipo I e tipo II, esclerose múltipla, síndrome de Sjogren, esclerodermia, glomerulonefrite, rejeição a transplante, por exemplo, de aloenxerto de órgão ou tecido, e rejeição a xenoenxerto e doença de enxerto *versus* hospedeiro.  
15

Em uma concretização, os métodos da presente invenção compreendem a administração, para um paciente portador de AR, de uma molécula de fusão TACI-Ig em quantidades que variam de aproximadamente 0,01 mg/kg de peso corporal do paciente a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal do paciente. A molécula de fusão TACI-Ig pode ser administrada repetidamente ou em intervalos pré-determinados. A título de ilustração, a molécula pode ser administrada 7 ou mais vezes em intervalo de 12 semanas. Esse tratamento inicial com polipeptídeo de fusão TACI-Ig pode ser seguido por administração do polipeptídeo quinzenalmente (a cada duas semanas) por, pelo menos, mais 2 semanas adicionais, por exemplo, o polipeptídeo pode ser administrado quinzenalmente por mais 2 a 30 semanas adicionais. Alternativamente, o polipeptídeo pode ser administrado semanal ou diariamente.  
20  
25  
30

De acordo com os métodos da presente invenção, a administração de polipeptídeo de fusão TACI-Ig, para paciente portador de AR, pode

ser por via subcutânea, oral ou intravenosa e associada a outros medicamentos. Estes medicamentos incluem, entre outros, DMARDs, como hidroxicloroquina, sulfassalazina, metotrexato, leflunomida, rituximab, infliximab, azatioprina, D-penicilamina, ouro (oral ou intramuscular), minociclina e ciclosporina, corticosteróides como prednisona, NSAIDS, citocinas, anti-citocinas e interferons.

#### Descrição resumida das figuras

Figura 1. Árvore de decisão de escalonamento de dose para tratamento com TACI-Fc5.

Figura 2. Diagrama de áreas corporais de paciente que podem ser utilizadas para injeções subcutâneas da molécula TACI-Ig.

#### Descrição detalhada da invenção

Em várias concretizações, a presente invenção pertence a métodos de tratamento de doença auto-imune em um paciente pela inibição da interação de BlyS e/ou APRIL com seus receptores. O paciente pode ser um mamífero, por exemplo, um humano. Em uma concretização, Os métodos utilizam um inibidor constituído por: 1) um polipeptídeo contendo um domínio, pelo menos, parcialmente idêntico ao domínio extracelular de TACI, ou um fragmento deste, que se liga a BlyS e/ou APRIL; e 2) uma cadeia constante de imunoglobulina humana. Em uma concretização, os métodos da invenção utilizam uma molécula de fusão, compreendendo uma cadeia constante de imunoglobulina humana e qualquer polipeptídeo com, pelo menos, aproximadamente 50%, pelo menos, aproximadamente 60%, pelo menos, aproximadamente 65%, pelo menos, aproximadamente 70%, pelo menos, aproximadamente 75%, pelo menos, aproximadamente 80%, pelo menos, aproximadamente 85%, pelo menos, aproximadamente 90%, pelo menos, aproximadamente 95% ou pelo menos, aproximadamente 99% de identidade de seqüência com o domínio extracelular de TACI. As Patentes U.S. Nos. 5 969 102, 6 316 222 e 6 500 428 e os pedidos de patente U.S. 09/569 245 e 09/627 206 (cujos conteúdos são aqui incorporados, em sua totalidade, por referência neste pedido de patente) expõem seqüências para o domínio extracelular de TACI, bem como fragmentos específicos do domínio extracelu-

lar de TACI que interagem com ligantes de TACI, incluindo BlyS e APRIL. Um fragmento ilustrativo do domínio extracelular de TACI compreende um ou dois motivos repetidos de cisteína. Outro fragmento ilustrativo compreende os aminoácidos 30-110 do domínio extracelular de TACI ou fragmentos deste. Ainda um outro fragmento ilustrativo compreende os aminoácidos 1-154 do domínio extracelular de TACI (SEQ ID NO: 1) ou fragmentos deste.

Outras moléculas de fusão que podem ser utilizadas para os métodos da invenção incluem um polipeptídeo de fusão entre uma cadeia constante de imunoglobulina humana e o domínio extracelular completo de TACI, ou seu ortólogo, ou polipeptídeo de fusão uma cadeia constante de imunoglobulina humana e qualquer fragmento do domínio extracelular de TACI que se ligue aos ligantes de BlyS e APRIL. Qualquer molécula de fusão utilizada nos métodos da invenção pode ser referida como molécula de fusão TACI-Ig.

TACI-Fc5 é uma das moléculas de fusão TACI-Ig úteis para os métodos da invenção. TACI-Fc5 é um polipeptídeo de fusão recombinante, compreendendo a porção extracelular que se liga a ligante de receptor de TACI, constituída pelo aproximadamente aminoácido 1 ao aproximadamente aminoácido 154 (SEQ ID NO: 1) e pela porção Fc modificada de IgG humana, Fc5 (SEQ ID NO: 2). Outras moléculas TACI-Ig úteis para os métodos da presente invenção incluem uma molécula de fusão contendo o polipeptídeo com SEQ ID NO: 2 e um polipeptídeo que se liga a BlyS e que é, pelo menos, aproximadamente 50%, pelo menos, aproximadamente 60%, pelo menos, aproximadamente 65%, pelo menos, aproximadamente 70%, pelo menos, aproximadamente 75%, pelo menos, aproximadamente 80%, pelo menos, aproximadamente 85%, pelo menos, aproximadamente 90%, pelo menos, aproximadamente 95% ou pelo menos, aproximadamente 99% idêntica a SEQ ID NO: 1.

Concretizações da presente invenção compreendem métodos de uso de uma molécula de fusão TACI-Ig para o tratamento de AR. Outras doenças auto-imunes que podem ser tratadas com os métodos da invenção incluem lupus eritematoso sistêmico (LES), doença de Graves, diabetes tipo



I e tipo II, esclerose múltipla, síndrome de Sjogren, esclerodermia, glomerulonefrite, rejeição a transplante, por exemplo, aloenxerto de órgão ou de tecido, e rejeição a xenoenxerto, doença de enxerto versus hospedeiro ou qualquer outra doença auto-imune que possa ser tratada por diminuição do número de células B maduras circulantes e de células secretoras de imunoglobulina e de imunoglobulinas solúveis, associadas a estas doenças.

Concretizações compreendem também métodos of tratamento pela administração para um paciente de uma molécula de fusão, constituída por domínio constante de imunoglobulina humana e por polipeptídeo compreendendo qualquer fragmento do domínio extracelular de TACI que possa se ligar a BlyS e/ou APRIL.

É possível administrar uma molécula de fusão TACI-Ig para um paciente de acordo com qualquer via adequada de administração, inclusive, entre outras, via oral, intravenosa ou a subcutânea.

Formulações de TACI-Ig úteis para os métodos da invenção podem ser preparadas e armazenadas em forma de solução isotônica estéril congelada. Estas formulações podem incluir outros ingredientes ativos e excipientes como, por exemplo, cloreto de sódio, tampão fosfato e hidróxido de sódio ou ácido O-fosfórico (pH 6,0). As formulações TACI-Ig podem ser administradas, para um paciente, combinadas a outros medicamentos. Estes medicamentos incluem, entre outros, DMARDs, como hidroxiquina, sulfasalazina, metotrexato, leflunomida, rituximab, infliximab, azatioprina, D-penicilamina, ouro (oral ou intramuscular), minociclina e ciclosporina, corticosteróides como prednisona, NSAIDS e fármacos para o tratamento de dor. Métodos da invenção podem ser utilizados, associados a outros métodos de tratamento de doenças auto-imunes. Estes outros métodos de tratamento incluem, entre outros, cirurgia, acupuntura, fisioterapia e geneterapia. Formulações de TACI-Ig podem ser administradas antes, simultânea ou subsequentemente a outros métodos de tratamento.

Foi demonstrado que TACI-Fc5 inibe a ativação de BlyS para proliferação de células B *in vitro*. O tratamento com TACI-Fc5, em camundongos, resulta em bloqueio parcial em termos de desenvolvimento de célu-

las B com efeito mínimo sobre precursores de células B, na medula óssea, e de outras linhagens celulares, inclusive de células T, monócitos e de neutrófilos no sangue periférico. Camundongos transgênicos, construídos para superexpressar uma forma solúvel do receptor de TACI no sangue, produzem número menor de células B maduras e exibem níveis reduzidos de anticorpo circulante. Os camundongos transgênicos TACI-Fc5 apresentaram números normais de células no timo, medula óssea e linfonodo mesentérico. Não houve diferenças significativas em populações de células T no timo, linfonodo e baço. (Gross *et al. Immunity* 2001, 15(2):289-302).

Ademais, em camundongos, TACI-Ig é capaz de inibir a produção de anticorpos contra antígenos específicos em resposta imune, quer administrado durante a resposta primária ou durante a resposta secundária a um antígeno. Nesses estudos, não foi observado efeito, sobre resposta de células T, à provocação antigênica *ex vivo*. Em um modelo animal de lupus eritematoso sistêmico, o tratamento com proteínas de fusão TACI-Ig surtiu efeito de limitar o aparecimento e progressão da doença. (Gross *et al., Nature* 2000, 404:995-999). Igualmente, em um modelo de camundongos de artrite induzida por colágeno, TACI-Ig foi capaz de inibir anticorpos específicos contra colágeno e de reduzir a incidência de inflamação e a taxa de ocorrência de doença. (Gross *et al., Immunity* 2001, 15(2):289-302).

Uma composição compreendendo uma molécula de fusão TACI-Ig pode ser administrada a um paciente uma vez ou pode ser administrada para o paciente repetidamente ao longo de um período de tempo. Por exemplo, um paciente pode receber uma injeção subcutânea de moléculas TACI-Ig e, depois do mesmo, a sua condição pode ser monitorada. Em pacientes que demonstram melhora ou, pelo menos, estabilização de sua condição, podem ser efetuada a administração de uma molécula de fusão TACI-Ig repetidamente ou por período adicional de tempo. O período adicional de tempo pode ser de aproximadamente 2 até aproximadamente 30 semanas. Por exemplo, pode ser efetuada a administração de três doses de molécula de fusão TACI-Ig, para um paciente, durante um intervalo de quatro semanas. Alternativamente, esta administração pode ser de sete doses de molécula de

fusão TACI-Ig durante um intervalo de doze semanas. A administração de moléculas TACI-Ig, para um paciente, pode ser diária, quinzenal, mensal, de dois em dois meses, etc.

Uma molécula de fusão TACI-Ig é administrada para um paciente em quantidade eficiente para o tratamento da condição do paciente. Em uma concretização, o termo "tratamento", em relação a uma doença ou distúrbio especificado, inclui, entre outros, inibição da doença ou distúrbio, por exemplo, interrompendo o desenvolvimento da doença ou distúrbio; alívio da doença ou distúrbio, por exemplo, causando a regressão da doença ou distúrbio; ou alívio de uma condição causada ou resultante da doença ou distúrbio, por exemplo, atenuando, prevenindo ou tratando sintomas da doença ou distúrbio. Em uma outra concretização, a quantidade pode variar de 0,01 mg por kg de peso corporal do paciente a 10 mg por kg de peso corporal do paciente. Doses ótimas para tratamento com molécula de fusão TACI-Ig podem ser desenvolvidas, utilizando um diagrama da Figura 1, descrito mais detalhadamente no Exemplo 5.

Moléculas de fusão TACI-Ig podem ser liberadas em qualquer maneira adequada. Em uma concretização, a molécula é liberada por injeção peritoneal. Em outra concretização, a injeção peritoneal é por via subcutânea. Em uma outra concretização, a injeção peritoneal é administrada através da parede anterior do abdômen. Quando a administração de uma dose requerer mais de uma injeção, estas podem ser administradas com poucos centímetros de distância e relativamente próximas, em termos de tempo, por exemplo, tão próximo quanto razoavelmente possível. Para administração repetida do fármaco, o local de administração na parede anterior do abdômen pode ser em rodízio ou alternado. Exemplos de zonas para injeção subcutânea, na parede anterior do abdômen, são apresentados na Figura 2 e incluem a área externa superior esquerda, área externa inferior direita, área externa superior esquerda, área inferior mediana, bem como os terços direito e esquerdo e região superior dos braços (Figura 2). Alternativamente, a liberação de moléculas de fusão TACI-Ig da presente invenção pode ser por meio de injeções intravenosas ou por via oral, em forma de comprimidos,

cápsulas, líquido, composições ou géis, etc.

#### Exemplo 1

Testes referentes à farmacologia, toxicologia e farmacocinética de TACI-Fc5 em modelo experimental animal.

5                   TACI-Fc5 foi avaliado em um modelo de resistência de hospedeiro que ofereceu a oportunidade de determinar diretamente a reserva funcional do sistema imune. Camundongos foram provocados com vírus *Influenza* durante tratamento com TACI-Fc5. Dexametasona, utilizada como controle positivo, resultou em infecção viral intensificada e prolongada. A administração de uma única dose de TACI-Fc5, pela via subcutânea (SC), reduziu as células B circulantes, IgG e IgM totais e IgG e IgM, específicas contra o vírus Influenza, porém não diminuiu a capacidade dos animais de eliminar a infecção viral.

15                   Estudos Principais de Segurança Farmacológica demonstraram que TACI-Fc5 não induziu, em camundongos ou macacos, alterações importantes nos sistemas nervoso, respiratório e cardiovascular em doses SC de até 80 mg/kg. Somente em camundongos, foi observado estado de hiper-alerta e atividade locomotora discretamente aumentados, achados que podem sugerir efeito estimulante mínimo e transitório, na dose de 80 mg/kg, com nível de efeito não observado (NOEL) equivalente à dose de 20 mg/kg.

20                   Quando administrado a camundongos como dose única pela via intravenosa (IV) ou SC, TACI-Fc5 não induziu mortalidade ou efeitos anormais gerais ou locais apreciáveis, nos animais, até a dose mais alta tecnicamente possível de 1200 mg/kg.

25                   A administração de TACI-Fc5 a macacos, como dose única, pela via SC em nível de dose de 240 mg/kg, não resultou em mortalidade ou em quaisquer efeitos tóxicos importantes.

30                   Com base nos resultados obtidos após 2 ou 4 semanas de administração de TACI-Fc5, por via subcutânea, para camundongos nas doses de 5, 20 e de 80 mg/kg/a cada dois dias, pode ser concluído que o composto é bem tolerado nessa espécie em doses de até 80 mg/kg. Modificações relacionadas com o tratamento, limitadas ao sistema imune, foram reveladas em

todas as doses. Essas alterações envolveram diminuições em número total e de células B maduras e em níveis de IgG e IgM séricas. Testes por imunohistoquímica, efetuados no baço e linfonodos, confirmaram depleção limitada a células B, com número de células T inalterado. Todas estas alterações, em alguns casos relacionadas com tempo e dose, foram consideradas efeitos farmacológicos exagerados, conforme esperado em espécies respondedoras após administração de doses muito altas de TACI-Fc5. No geral, estes efeitos foram observados após 2 e 4 semanas de tratamento, sem indicações importantes de progressão com tempo. Aparentemente, demonstraram ser quase que completamente reversíveis após 4 semanas de retirada de tratamento, exceto por contagens diminuídas de células B.

A fim de determinar a reversibilidade da modulação de células B, um estudo posterior em camundongos foi conduzido nas doses de 5 e 20 mg/kg, fornecidas por 4 semanas a cada dois dias, com períodos de recuperação mais longos. A recuperação do número total e de células B maduras circulantes foi atingida após dois meses de retirada, na dose de 5 mg/kg, e após 4 meses na dose de 20 mg/kg. Além disso, a injeção induziu discreto aumento, comparado a controles com veículo, de alterações inflamatórias, nos locais da injeção, em todas as doses.

A administração subcutânea, em macacos, de TACI-Fc5 não induziu sinais importantes de toxicidade em quaisquer das doses testadas: 5, 20 ou 80 mg/kg/a cada três dias, quando fornecidas por quatro semanas consecutivas.

A tolerância local foi considerada satisfatória até e incluindo a dose mais alta testada. Alterações discretas ou moderadas reversíveis, relacionadas com dose, de origem inflamatória (principalmente infiltrados perivascularres de células mononucleares e eosinófilos) foram induzidas, porém consideradas, em grande parte, relacionadas com a presença local de proteínas exógenas. Somente na dose alta, alguns animais apresentaram inflamação subaguda discreta ou moderada, associada à formação de cisto em uma destas.

O número de células B circulantes diminui nas determinações de

subpopulações de linfócitos, bem como depleção histológica da zona marginal folicular do baço (conhecida como sendo uma área dependente de célula B), e foram observadas diminuições em níveis séricos totais de IgG e de IgM. Esses achados foram considerados resultantes das propriedades farmacodinâmicas de TACI-FcS, conforme demonstrado por experimentos farmacológicos *in vitro* e *in vivo*. O seu grau foi exagerado, conforme esperado em estudos de toxicologia, nos quais doses altas do composto em teste foram intencionalmente em animais. Embora níveis baixos de IgG e IgM séricas e de depleção linfocítica no baço demonstrassem uma tendência evidente para recuperação, no período permitido de retirada de um mês, as células B maduras totais e circulantes não exibiram comportamento semelhante indicando ser necessário um período mais longo para recuperação.

No final do período de tratamento (quatro semanas), os machos e fêmeas do grupo da dose alta (80 mg/kg) apresentaram diminuição discreta, porém estatisticamente significativa, em valores médios de proteína total, comparado a controles. Uma tendência discreta para diminuição foi observada também na mesma dose em duas semanas e no final do período de recuperação.

Modificações de proteínas séricas, nas fêmeas da dose alta, no final do período de administração de doses, incluíram diminuição em percentual de albumina e da fração de alfa-1-globulina. A fração de alfa-1-globulina revelou também ser mais alta do que controles, em 3 fêmeas do grupo (20 mg/kg).

A imunogenicidade de TACI-FcS foi baixa em camundongos (somente algumas fêmeas exibiram níveis baixos de anticorpos ligados circulantes, durante e após o período de tratamento) e macacos (foram constatados níveis baixos após o período de recuperação em alguns animais); não houve evidência de anticorpos neutralizadores em qualquer uma das espécies.

TACI-Fc5 foi testado com a bateria padrão de testes *in vivo* para detectar toxicologia em reprodução e fertilidade (teste de fertilidade em camundongos machos e em fêmeas, tratados por via sc, nas doses de 5, 20 e

80 mg/kg/a cada dois dias, antes e durante o acasalamento e até o período de implantação) e desenvolvimento embriofetal (estudo de desenvolvimento embriofetal em fêmeas de camundongo e de coelho, tratadas por via sc nas doses de 5, 20 e 80 mg/kg/a cada dois dias durante o período de organogênese).

O teste de fertilidade em camundongos revelou aumento relacionado com dose, em perdas pré e pós-implantação, após exposição a 20 e 80 mg/kg/a cada dois dias de TACI-Fc5, comparado ao grupo de controle.

A avaliação dos dados obtidos em camundongos do estudo de desenvolvimento embriofetal revelou que não foram observados efeitos tóxicos em embrião, em qualquer dose, sendo que nenhuma malformação fetal relacionada com o composto foi induzida.

Em coelhas, o estudo de desenvolvimento embriofetal revelou que o tratamento causou menor ganho de peso corporal e menor consumo de alimento, relacionado com dose, nos animais prenhes tratados com 20 ou 80 mg/kg/a cada dois dias. As alterações maternas acima foram associadas com taxa maior de reabsorção e menor peso corporal fetal nas duas doses mais altas.

Estes resultados sugerem um possível efeito de TACI-Fc5 sobre implantação do blastócito de camundongo no útero. Os efeitos observados de TACI-Fc5 sobre ganho de peso e consumo de alimento materno foram possivelmente responsáveis pelos efeitos observados na viabilidade da ninhada, em coelhas expostas a 20 ou 80 mg/kg/a cada dois dias durante a organogênese, e de que não há toxicidade direta de TACI-Fc5 sobre o feto. Nenhuma malformação foi atribuída ao tratamento com TACI-Fc5 nestas duas espécies de animais.

Adicionalmente, foi conduzido exame histológico de gônadas e de órgãos sexuais acessórios de machos e de fêmeas nos estudos de toxicidade de 2 semanas e de 1 mês, efetuado por via sc em camundongos e macacos, nos quais TACI-Fc5 foi administrado a cada 2 ou 3 dias, respectivamente, sem evidência de efeitos relacionados com o tratamento.

O estudo de tolerância local, em coelhos, demonstrou que a

formulação de TACI-Fc5 foi bem tolerada localmente, quando injetada pela via subcutânea para coelhos, na dose de 70 mg/ml.

Um estudo de farmacocinética de dose única, por via SC e por IV, foi conduzido em camundongos machos, quer pela via intravenosa na dose de 1 mg/kg ou pela via subcutânea nas doses de 1, 5 e 15 mg/kg. O tempo estimado para absorção máxima ( $t_{max}$ ) foi entre 4 horas a 16 horas, com  $t_{1/2}$  calculado como sendo em torno de 40-50 horas.

Um perfil semelhante ao de infusão foi observado durante os primeiros 30 minutos, depois de administração IV de bolus, após o qual TACI-Fc5 foi eliminado do corpo com meia-vida de eliminação de 44 horas. Após administração subcutânea, a razão obtida entre as AUCs (Área Sob a Curva) nas 3 doses de 1, 5 e 15 mg/kg foi de 1:5:8, comparada a razão entre doses de 1:5:15, sugerindo perda de proporcionalidade de dose na dose alta.

A biodisponibilidade de TACI-Fc5, pela via subcutânea, foi de 76 e 89% nas doses de 1 e de 5 mg/kg, porém foi mais baixa do que a esperada na dose de 15 mg/kg (0,42; calculada em comparação a dose intravenosa de mg/kg) em camundongos. Uma vez que a meia-vida de eliminação aparente não foi alterada, a biodisponibilidade mais baixa observada, na dose alta, poderia ser explicada por aumento de *clearance* (depuração) e volume de distribuição, ou mais provavelmente por absorção menor decorrente da formação de depósito no local da injeção.

Um estudo de farmacocinética de dose única, por via SC e por IV, foi conduzido, em macacos cynomolgus machos, quer pela via intravenosa, na dose de 1 mg/kg, ou a via subcutânea nas doses de 1, 5 e 15 mg/kg.

Seis macacos machos foram divididos em 2 grupos de 3 animais cada, e receberam 2 administrações separadas por um período de *wash-out* (limpeza) de duas semanas. Os tratamentos do 1º período foram de 1 mg/kg IV (grupo 1) e de 1 mg/kg SC (grupo 2), e os tratamentos do 2º período foram de 5 mg/kg SC (grupo 1) e de 15 mg/kg SC (grupo 2).

O tempo para absorção máxima ( $t_{max}$ ) foi estimado entre 6 horas a 8 horas, com  $t_{1/2}$  calculada como sendo em torno de 120-190 horas.



Foi observado um perfil semelhante ao de infusão em 2 dos 3 macacos durante os primeiros 15 min depois de administração IV de bolus, após o qual TACI-Fc5 foi eliminado do corpo com meia-vida de eliminação de  $179 \pm 29$  horas. O volume de distribuição no estado de equilíbrio, Vss, foi de  $382 \pm 82$  ml/kg, volume próximo ao do volume de líquido intracelular.

Após administração subcutânea, a AUC *versus* proporcionalidade de dose foi boa, ou seja, 216, 1182 e 2732 h  $\mu$ g/ml para doses SC de 1, 5 e 15 mg/kg. A biodisponibilidade de TACI-Fc5 pela via subcutânea (calculada *versus* a dose IV de 1 mg/kg IV) foi de 0,92; 1,02 e 0,77, nas doses baixa, intermediária e alta. Portanto, TACI-Fc5 foi quase que completamente absorvido, pela via subcutânea.

Foram constatados níveis baixos de TACI-Fc5 nas amostras de pré-dose, durante o 2º período (entre doses de 1 mg/kg por vias IV ou SC, 1º período, e doses de 5 ou 15 mg/kg, respectivamente, no 2º período), de todos os seis macacos, já que durante o período de *washout* de 2 semanas, somente 2 meias-vidas haviam transcorrido, tempo insuficiente para eliminação completa do composto administrado (requerendo 5 meias-vidas). No entanto, a contribuição estimada para AUC da dose anterior poderia representar somente aproximadamente 2% da AUC total no 2º período.

Os níveis séricos de IgG diminuíram 10,2% após administração de dose por via IV. A dose de 15 mg/kg SC exigiu efeito ligeiramente mais alto, embora nenhuma diferença tenha sido observada entre as doses de 1 e de 5 mg/kg SC (diminuições de 8,6%, 8,4% e de 12,3%, após doses de 1, 5 e 15 mg/kg, respectivamente). Os níveis séricos de IgM diminuíram 18,0% após administração de dose por via IV. Não foram observadas diferenças entre as 3 doses SC (diminuições de 23,5%, 23,0% e de 24,2%, após doses de 1, 5 e 15 mg/kg, respectivamente).

## Exemplo 2

### Determinação de dose tolerável de TACI-Fc5 em voluntários saudáveis

O primeiro estudo de fase I de TACI-Fc5 sendo concluído atualmente. Este é um estudo de escalonamento de doses em seqüência com duplo-cego, placebo controlado que investiga a segurança, farmacocinética

e farmacodinâmica de doses únicas de TACI-Fc5, administradas por via subcutânea em voluntários saudáveis do sexo masculino. Abaixo, é apresentada uma descrição do desenho do estudo, juntamente com sumários dos dados disponíveis.

5 TACI-Fc5 foi administrado em voluntários saudáveis em um estudo de escalonamento de dose em seqüência com duplo-cego e placebo controlado para investigar a segurança, farmacocinética e farmacodinâmica de doses únicas de TACI-Fc5, administradas por via subcutânea em voluntários saudáveis do sexo masculino.

10 Foram recrutados quatro grupos de participantes. Em cada grupo de dose, um deles foi randomizado para receber uma injeção de placebo, com todos os outros recebendo TACI-Fc5. Após a liberação do centro de investigação, após 24 horas da dose, os voluntários comparecem em regime ambulatorial durante sete semanas para avaliações programadas. A tolerância sistêmica e a local ao TACI-Fc5 foram monitoradas por achados encontrados no exame físico, dor no local da injeção, reações locais à tolerância no local da(s) injeção(ões) (hiperemia, edema, presença de ferida e prurido), sinais vitais, ECGs com 12 derivações (eletrocardiogramas), avaliações laboratoriais quanto à segurança e registro de eventos adversos.

20 Marcadores farmacocinéticos e farmacodinâmicos foram monitorados durante o período de sete semanas que seguiram à administração das doses. O efeito farmacodinâmico de TACI-Fc5 foi monitorado por alguns marcadores que incluíram: subpopulações de linfócitos, analisadas por FACS (células plasmáticas (CD138+), células B imaturas (CD19+, IgD-), células B maduras (CD19+, IgD+), células T *helper* (CD5+, CD4+), células T citotóxicas (CD5+, CD8+), células T totais (CD5+)), BlyS livre, complexo BlyS/TACI-Fc5, IgG, IgM, anticorpos anti-TACI-Fc5.

25 O escalonamento de doses foi orientado por um algoritmo no protocolo do estudo, com base em revisão de dados, efetuada 3 semanas após a administração de doses. Quatro grupos receberam doses: O grupo 1 recebeu 2,1 mg; o grupo 2 recebeu 70 mg; o grupo 3 recebeu 210 mg e o grupo 4 recebeu 630 mg.

Resultados: Doses de TACI-Fc5, variando de 0,03 mg/kg a 9 mg/kg, foram administradas em voluntários saudáveis do sexo masculino. Dados de segurança e de tolerância, juntamente com os de análise de subpopulações de linfócitos por FACS, na 3ª semana, foram utilizados para orientar o escalonamento de doses entre coortes. Foram estudadas quatro coortes, conforme apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Distribuição dos voluntários

Número da coorte	Número de voluntários <sup>c</sup>	Nível de dose	Dose administrada <sup>a</sup>
1	6	0,03 mg/kg <sup>b</sup>	2,1 mg
2	6	1 mg/kg	70 mg
3	6	3 mg/kg	210 mg
4	5 <sup>d</sup>	9 mg/kg	630 mg

<sup>a</sup> Em cada nível de dose, foi assumido peso nominal de 70 kg, com os voluntários recebendo uma dose padronizada.

10 <sup>b</sup> Em decorrência de um erro de diluição, a dose administrada para a coorte 1 foi dez vezes mais baixa do que a planejada (0,3 mg/kg). Este erro foi identificado na revisão dos dados farmacocinéticos da coorte 1, porém após a dosagem da coorte 2.

<sup>c</sup> incluindo 1 voluntário em uso de placebo.

15 <sup>d</sup> Um voluntário retirou-se antes de ser administrada a injeção.

As características demográficas basais estão resumidas para a população, por coorte e totais, e são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Características demográficas

Característica	Estatística	Coorte 1	Coorte 2	Coorte 3	Coorte 4	Total
Idade (anos)	n	6	6	6	5	23
	Média (DP)	30,2 (7,0)	33,0 (7,7)	25,3 (6,8)	35,0 (5,4)	30,7 (7,4)
	Variação	23-43	23-43	19-34	30-44	19-44
Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	n	6	6	6	5	23
	Média (SD)	24,7 (1,7)	26,0 (2,0)	24,0 (3,5)	25,3 (2,8)	24,8 (2,4)
	Variação	22,2-26,6	23,1-28,9	18,7-28	22,3-27,5	18,7-28,9
Altura (m)	n	6	6	6	5	23
	Média (SD)	1,82 (0,04)	1,80 (0,08)	1,77 (0,07)	1,73 (0,06)	1,78 (0,07)
	Variação	1,77-1,88	1,71-1,91	1,67-1,85	1,68-1,78	1,67-1,91
Peso (kg)	n	6	6	6	5	23
	Média (SD)	81,7 (7,3)	84,2 (12,1)	74,7 (7,6)	76,2 (9,2)	79,0 (9,4)
	Variação	71-91	69-101	67-84	63-89	63-101
Sexo n (%)	n	6	6	6	5	23
	Masculino	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	5 (100%)	23 (100%)
	Variação	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Raça n (%)	n	6	6	6	5	23
	Branca	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	5 (100%)	23 (100%)
	Outra	0(0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

No geral, a média + DP, para idade, foi de 30,7 + 7,4 anos, e a média do índice de massa corporal foi de 24.8 kg/m<sup>2</sup>. Todos os voluntários eram brancos do sexo masculino.

- 5 TACI-Fc5 foi bem tolerado em todos os grupos. Não houve efeitos aparentes em achados no exame físico, sinais vitais ou ECG de 12 derivações.

Tabela 3: Lista de eventos adversos resultantes de tratamento, relatados até esta data

Sistema do corpo	Termo de escolha	Tratamento					Total	%
		TACI-Fc5	TACI-Fc5	TACI-Fc5	TACI-Fc5	Placebo		
		2,1mg	70mg	210mg	630 mg			
		N	N	N	N	N	N	
Distúrbios oculares	Edema de pálpebra	1					1	2,1
Distúrbios gastrointestinais	Dor em abdômen superior						1	2,1
	Diarréia		1	1	1	1	4	8,5
	Ulceração em boca				1	1	2	4,3
	Náusea		1		1	1	3	6,4
	Vômitos			1	1		2	4,3
Distúrbios gerais e condições no local da administração	Enfermidade semelhante a gripe				1	2	3	6,4
Infecções e infestações	Nasofaringite		4	1	1		6	10,6
	Abscesso perianal	1					1	2,1
Lesão, envenenamento e complicações relativas ao procedimento	Contusão					1	1	2,1
	Lesão articular			1			1	2,1
Distúrbios musculoesqueléticos e do	Artralgia		1				1	2,1

tecido conjun- tivo	Dor lombar					1	1	2,1
Distúrbios do sistema nervo- so	Cefaléia	1	2	2	2	1	8	17,0
Distúrbios res- piratórios,	Tosse		1		1	1	3	6,4
torácicos e do mediastino	Congestão nasal			1		1	2	4,3
	Dor faringolarin- geana	1	2	1	2	1	7	14,9
Distúrbios da Pele e do								
Tecido subcu- tâneo	Erupção cutânea generalizada					1	1	2,1

Em alguns voluntários, foram observados hiperemia e edema transitório, no local da administração, sendo que todos os voluntários ns co-  
ortes 3 e 4 foram afetados por hiperemia. Embora a incidência de reações  
no local da injeção aparente ser maior em grupos de doses mais altas, acre-  
5 dita-se que esse achado esteja relacionado com o volume maior (e número)  
das injeções.

Foram relatados quarenta e oito (48) eventos adversos relacio-  
nados com o tratamento, nas sete semanas que se seguiram à administra-  
ção de doses. A maioria destes eventos (44 eventos, 91,7%) foi leve, com o  
10 restante, moderado (4 eventos, 8,3%). Não houve eventos adversos graves  
e nenhum evento adverso sério durante este período. Não houve relação  
aparente entre as doses de TACI-Fc5 administradas e a incidência, intensi-  
dade ou relação atribuída de eventos adversos. Os eventos adversos, rela-  
tados até esta data, estão resumidos na Tabela 3.

15 Foi considerado que TACI-Fc5 demonstrou ser tolerado em do-  
ses de até 630 mg sem preocupações significativas relativas à segurança  
tendo sido levantadas. Esses dados apóiam as doses pretendidas dos estu-  
dos propostos em sujeitos.

20 Foi realizada uma análise não compartimentar de concentrações  
séricas de TACI. Esta análise preliminar foi realizada empregando tempos

nominais de amostragem. Os voluntários 2, 6 e 13 apresentaram concentrações mensuráveis pré-dose e, dessa forma, as concentrações basais foram subtraídas de todas as medições pós-dose, anterior à análise. Os parâmetros farmacocinéticos, após doses únicas subcutâneas de 2,1, 70, 210 e 630 mg, estão resumidos na Tabela 4. As concentrações do fármaco foram próximas ao limite de quantificação do ensaio, após a dose de 2,1 mg de TACI-Fc5, limitando o valor dos dados a esse nível de dose. Em doses de 70 mg e acima, o  $T_{max}$  (tempo para absorção máxima) variou de 16 a 36 horas, e mediana do  $t_{1/2}$  geral (calculada a partir da parte terminal da curva) foi de 303 horas. Ademais, a AUC (extrapolada para infinito) e o  $C_{max}$  aumentaram de maneira maior do que a proporcional à dose.

Tabela 4: Parâmetros PK

Parâmetro	Tratamento	n			Min	Mediana	Max	CV
$C_{max}$ (µg/ml)	2,1 mg	5	0,015	0,011	0,005	0,013	0,032	74
$T_{max}$ (h)	2,1 mg	5	-	-	8	72	336	-
$t_{1/2}$ (h)	2,1 mg	4	204	180	45	203	365	88
AUC(hµg/ml)	2,1 mg	4	8,55	9,65	0,524	6,62	20,4	113
% AUC extrap	2,1 mg	4	36	24	13	32	69	65
CL/F (l/h)	2,1mg	4	1,70	1,90	0,10	1,34	4,01	112
$C_{max}$ (µg/ml)	70mg	5	0,617	0,236	0,426	0,496	0,985	38
$T_{max}$ (h)	70 mg	5	-	-	16	16	36	-
$t_{1/2}$ (h)	70mg	5	255	23	219	264	276	9
AUC (h.µg/ml)	70mg	5	79,7	15,7	65,4	72,5	101	20
% AUC extrap	70 mg	5	10	1	9	11	11	12
CL/F (l/h)	70	5	0,90	0,17	0,69	0,97	1,07	18
$C_{max}$ (µg/ml)	210 mg	5	3	0,902	1,84	2,90	4,16	30
$T_{max}$ (h)	210 mg	5	-	-	12	16	36	-
$t_{1/2}$ (h)	210 mg	5	429	160	169	433	568	37
AUC (h.µg/ml)	210 mg	5	260	72	167	267	344	28
% AUC extrap	210 mg	5	6	3	1	6	9	54
CL/F (l/h)	210 mg	5	0,86	0,26	0,61	0,79	1,25	31
$C_{max}$ (µg/ml)	630 mg	4	13,9	2,79	11,4	13,7	16,7	20
$T_{max}$ (h)	630 mg	4	-	-	16	16	16	-

t <sub>1/2</sub> (h)	630 mg	4	313	16	291	316	329	5
AUC (h.µg/ml)	630 mg	4	992	194	719	1040	1170	20
% AUC extrap	630 mg	4	2	0	1	2	2	18
CL/F (l/h)	630 mg	4	0,66	0,15	0,54	0,61	0,88	23

As análises de farmacodinâmica revelaram reduções em níveis basais de IgM, nas sete semanas que se seguiram as doses únicas de 70, 210 ou 630 mg. Embora nenhuma relação evidente de resposta à dose pudesse ser estabelecida com o tamanho pequeno de amostra, a extensão da  
5 redução de IgM foi maior no grupo de dose mais alta. Voluntários no grupo de dose de 70 mg aparentemente demonstraram retorno de níveis de IgM para os basais nas sete semanas após a dose. Os níveis, nos grupos de doses mais altas, permaneceram suprimidos neste instante de tempo. Não houve efeitos aparentes sobre níveis de IgG ou sobre as subpopulações de  
10 linfócitos, medidos por FACS.

Durante o período de amostragem, houve aumento proporcional em níveis de complexos BLyS/TACI-Fc5 que atingiram um platô em aproximadamente 600 horas após a dose. Conclusão: Dados em humanos, obtidos em voluntários saudáveis do sexo masculino, demonstraram que TACI-Fc5 é seguro e bem tolerado por sujeitos em doses de até 630 mg. A natureza, incidência e gravidade de eventos adversos foram comparáveis entre  
15 grupos de tratamento com TACI-Fc5 e com placebo. Não houve alterações clinicamente significativas em achados ao exame físico, sinais vitais, ECGs de 12 derivações ou em parâmetros laboratoriais de segurança. A tolerância local no sítio de administração foi boa. Estes dados apóiam das doses propostas em sujeitos com BCM.  
20

Após doses únicas em sujeitos saudáveis do sexo masculino, TACI-Fc5 atingiu T<sub>max</sub> entre 16 e 20 horas e AUC aumentou de maneira proporcional à dose, embora aumentos em C<sub>max</sub> tenham sido maiores do que  
25 proporcionalmente à dose. A meia-vida mediana de TACI-Fc5 foi de aproximadamente 300 horas. Foi observado efeito farmacodinâmico, em níveis de IgM, nas doses de 70, 210 e 630 mg. Não houve efeito aparente do tratamento sobre IgG ou subpopulações de linfócitos, após uma dose única de



TACI-Fc5. Não há riscos conhecidos ou antecipados de gravidade ou seriedade em particular que já não tenham sido levados em conta nos protocolos propostos do estudo.

### Exemplo 3

#### 5 Tratamento de pacientes portadores de AR com composições contendo TACI-Fc5

Pacientes de AR são avaliados clinicamente antes de ser efetuada a administração de TACI-Fc5. Avaliações basais são definidas como aquelas conduzidas imediatamente anterior à primeira administração de TACI-Fc5. O primeiro dia de administração de TACI-Fc5 é designado como "Dia 1". Os procedimentos seguintes são completados antes de administração, para um paciente, a primeira dose da medicação contendo TACI-Fc5: ECG; medição de sinais vitais (SV); exame físico; avaliação da atividade da doença (consultar o Exemplo 6); medição de altura e peso (somente na primeira dose e na visita de acompanhamento); exames laboratoriais de rotina (consultar a Tabela 5); cálculo da razão entre hidroxipiridinolina/lisilpiridinolina (HP/LP); medição farmacocinética (PK) e farmacodinâmica (PD) de concentração sérica de TACI-Fc5 livre e total, níveis séricos de APRIL e Blys livres, complexo BLyS/TACI-Fc5, contagens celulares por citometria de fluxo e medições de anticorpos anti-TACI (somente na primeira dose); e medição de biomarcadores no sangue, inclusive de subpopulações de linfócitos (o sangue repartido em três tubos, e o seu fenótipo analisado por FACS, de acordo com a Tabela 6), IgA, IgM, IgG (incluindo determinação de subtipos), auto-anticorpos anti-peptídeos citrinulados, fatores reumatóides (IgA-RF, IgM-RF, IgG-RF), proteína C reativa (CRP), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-1, IL-12 e de IL-8. Em um subconjunto de pacientes, é realizada biópsia sinovial ou coleta de amostra de líquido sinovial por agulha de punção, orientado por artroscopia, sendo efetuadas avaliações de PK, PD e de biomarcadores no líquido sinovial. Em coortes de doses repetidas, muitas ou todas estas medições são realizadas imediatamente antes de administrações subsequentes de TACI-Fc5.

#### Tabela 5: Parâmetros laboratoriais de rotina

<b>Bioquímica sangüínea</b>	<b>Hematologia</b>
$\gamma$ Glutamil Transferase	Hematócrito
Alanina Transaminase	Hemoglobina
Albumina	Hemoglobina corpuscular média
Fosfatase alcalina	CHCM (Concentração de hemoglobina corpuscular média)
Aspartato Transaminase	Volume corpuscular médio
Bilirubina – Direta (somente se Bilirubina Total estiver fora da variação normal)	Contagem de plaquetas
Bilirubina – Total	Contagem de hemácias
Cálcio	Contagem de leucócitos <sup>2</sup>
Creatinina	Velocidade de hemossedimentação (VHS)
Glicose (em jejum)	Urinálise
Fósforo inorgânico	pH
Potássio	Leucócitos
Proteínas Totais	Nitrito
Eletroforese de proteínas	Glicose
Complemento <sup>3</sup>	Cetonas
Sódio	Proteína <sup>3</sup>
Triglicerídeos <sup>1</sup>	Sangue <sup>3</sup>
Colesterol	Coagulação
Uréia	Tempo parcial de tromboplastina ativada
Ácido úrico	Tempo de protrombina

1: Os pacientes estarão em jejum por aproximadamente 10 horas antes de ser efetuada a determinação de triglicerídeos.

2: A contagem de leucócitos sangüíneos incluirá a contagem diferenciada dos leucócitos.

5 3: Se proteína, sangue ou leucócitos (hemácias ou leucócitos) estiverem presentes, será realizado exame microscópico da amostra.

Tabela 6: Subpopulações de linfócitos

<b>Tubo</b>	<b>Marcadores de antígenos</b>			
Tubo 1.	CD45	CD3	CD4	CD8
Tubo 2.	CD19	msIgG	msIgG	msIgG
Tubo 3.	CD19	CD38	CD27	IgD

**Tubo 1**

% e Abs de  $CD45+ / CD3+$  (Células T totais)

% e Abs de  $CD45+ / CD3+ / CD4+ / CD8-$  (Células T *helper*)

5 % e Abs de  $CD45+ / CD3+ / CD4- / CD8+$  (Células T citotóxicas/supressoras)

**Tubo 3: Abs calculado novamente utilizando contagens de células B totais ( $CD19+$ )**

% e Abs de  $CD19+$  (Células pan B)

% e Abs de  $CD19+ / IgD- / CD27-$  (Célula B imatura)\*

10 % e Abs de  $CD19+ / IgD+ / CD27-$  (Célula B madura)\*

% e Abs de  $CD19+ / CD27+ / CD38-$  (Célula B de memória)\*

% e Abs de  $CD19+ / CD27+ / CD38+$  (Células secretoras de Ig)

\* Células B virgens

Aproximadamente seis horas depois da dose, exceto pela coorte 15 6, foram realizadas as seguintes avaliações: ECG; SV; e coleta de amostras para PK e PD (somente em coortes de doses únicas).

O tratamento com TACI-Fc5 segue o desenho de escalonamento de dose em seqüência, descrito na Figura 1. A primeira coorte recebe uma única dose de 70 mg de TACI-Fc5 no Dia 1. Coortes subsequentes recebem 20 doses baseadas no algoritmo de escalonamento de dose, até uma dose máxima de 2940 mg. A segunda coorte recebe três doses de 70 mg de TACI-Fc5, durante período de um mês. A terceira coorte recebe uma única dose de 210 mg de TACI-Fc5. A quarta coorte recebe três doses de 210 mg de TACI-Fc5, durante período de um mês. A quinta coorte recebe uma única 25 dose de 630 mg de TACI-Fc5. A sexta coorte recebe sete doses de 420 mg de TACI-Fc5, durante período de três meses.

Avaliações pós-dose, incluindo coleta de amostras para PK, PD e avaliações de biomarcadores e de atividade da doença, são completadas de todas as coortes, em intervalos pré-definidos de até 14 semanas após as 30 doses (coortes de doses únicas), de até 18 semanas após as doses (coortes 2 e 4 de doses repetidas) e de até 26 semanas após as doses (coorte 6 de dose repetida). A Tabela 7 descreve o plano para avaliação pós-dose, inici-

ando no Dia 2, para coortes 1, 3 e 5 (as coortes de dose única). A Tabela 8 descreve o plano para avaliação pós-dose, iniciando no primeiro dia após a dose final (Dia 30), das coortes 2 e 4. A Tabela 9 descreve o plano para avaliação pós-dose, iniciando no dia da administração da segunda dose (Dia 15) da coorte 6. Reações no local da injeção, eventos adversos e medicações e procedimentos concomitantes são medidos durante todo o estudo, em todas as coortes. Os dados de eventos adversos são obtidos em visitas planejadas ou não do estudo, após o exame físico, com base em informação fornecida espontaneamente e por questionamento do paciente.

Evento adverso é definido como qualquer ocorrência médica não intencionada, na forma de sinais, sintomas, achados laboratoriais anormais ou doenças que apareçam ou piorem em relação à *baseline* (ou seja, a visita inicial), independente de relação causal e mesmo se nenhum produto sob investigação tenha sido administrado. A gravidade de um evento adverso pode ser avaliada, utilizando as seguintes definições: (1) leve – o paciente está ciente do evento ou sintoma, porém este é facilmente tolerado; (2) moderada – o paciente sente desconforto suficiente para interferir ou reduzir o seu nível habitual de atividade; (3) grave – comprometimento significativo de função, em que o paciente não é capaz de conduzir atividades habituais; e (4) muito grave – a vida do paciente está em risco pelo evento. A relação entre o evento adverso e a administração de TACI-Fc5 pode ser avaliada, utilizando as seguintes definições: (1) provável – relação causal clínica/biológica altamente plausível e há uma seqüência de tempo plausível entre o aparecimento do evento adverso e a administração de TACI-Fc5; (2) possível – relação causal clínica/biológica plausível e há uma seqüência de tempo plausível entre o aparecimento do evento adverso e a administração de TACI-Fc5; (3) improvável – relação causal improvável e uma outra causa documentada do evento adverso é mais plausível; e (4) não relacionado – uma relação causal pode ser definitivamente excluída e uma outra causa documentada do evento adverso é mais plausível. Condições médicas presentes na *baseline* que não pioram em gravidade ou frequência, durante a administração de TACI-Fc5, não são consideradas eventos adversos. Dados

de exacerbação of RA são obtidos como parte da avaliação da doença, e esta não é considerada evento adverso, a não ser se possível ou provavelmente relacionada com a administração de TACI-Fc5.

**Tabela 7: Plano para avaliação pós-dose das coortes 1, 3 e 5**

	<b>D2</b>	<b>D3-5</b>	<b>D8</b>	<b>D15</b>	<b>D29</b>	<b>D43</b>	<b>D57</b>	<b>D71</b>	<b>D85-92</b>
ECG	X		X	X	X				X
SV	X	X	X	X	X	X	X		X
Exame físico									X
Exame físico <sup>A</sup>	X		X	X	X	X	X		
ADA <sup>B</sup>				X	X		X		X
VIS <sup>C</sup>									X
Rotina Lab.	X		X	X	X	X	X		X
VHS				X	X		X		X
HP/LP urinária				X	X		X		X
Anticorpo anti-TACI-Fc5									X
PK/PD	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Biomarcadores		X		X	X	X	X	X	X
Contagens de células B (FACS)		X		X	X	X	X	X	X
Punção por agulha					X				
Biópsia sinovial							X		

5 A: Exame físico direcionado por queixas

B: ADA = avaliação de atividade da doença, medida por CRP sérica, VHS e razão HP/LP urinária.

C: VIS = Estado de imunização por vacina

**Tabela 8: Plano para avaliação pós-dose das coortes 2 e 4**

	D30	D33	D36	D43	D57	D71	D85	D99	D113-119
ECG				X	X				X
SV				X	X	X		X	X
Exame físico									X
Exame físico <sup>A</sup>				X	X	X		X	
ADA <sup>B</sup>					X				X
VIS <sup>C</sup>									X
Rotina Lab				X	X	X		X	X
VHS					X		X		X
HP/LP urinária					X		X		X
Anticorpo anti-TACI-Fc5									X
PK/PD	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Biomarcadores	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Contagens de células B (FACS)				X	X	X	X	X	X
Biópsia sinovial					X				

**A: Exame físico direcionado por queixas**

B: ADA = avaliação de atividade da doença, medida por CRP sérica, VHS e razão HP/LP urinária.

5 C: VIS = Estado de imunização por vacina

**Tabela 9: Plano para avaliação pós-dose da coorte 6**

[illegible]

físico										
Exame físico <sup>A</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
ADA <sup>B</sup>	X	X		X		X			X	X
VIS <sup>C</sup>										X
Rotina Lab	X	X		X		X			X	X
VHS				X		X			X	X
HP/LP urinária	X	X				X				X
Anticorpo anti-TACI-Fc5									X	X
PK/PD	X	X		X		X	X	X	X	X
Biomarcadores	X	X		X	X	X			X	X
Contagens de células B (FACS)	X	X		X		X			X	X
Biópsia sinovial						X				
Punção por agulha						X				

A: Exame físico direcionado por queixas

B: ADA = avaliação de atividade da doença, medida por CRP sérica, VHS e razão HP/LP urinária.

C: VIS = Estado de imunização por vacina

- 5 As doses, esquema de administração e via de administração de TACI-Fc5 são apresentados na Tabela 10. Resumidamente, foram incluídos setenta e dois pacientes portadores de AR, do sexo masculino e feminino e com idades entre 18 e 70 anos. Os pacientes possuíam diagnóstico estabelecido de AR ativa, moderada a grave, por pelo menos 6 meses, o tratamento falhado com não mais do que cinco DMARDs e não haviam utilizado outro tipo de DMARDs a não ser metotrexato em 4 ou mais semanas, anteriores
- 10

ao Dia 1. Além disso, os pacientes são FR positivo, nem há grávidas durante o estudo e até 3 meses após a última administração de TACI-Fc5. Estes pacientes são divididos em 6 coortes. Três das coortes possuem 8 pacientes, duas delas, 12 pacientes e uma coorte possui 24 pacientes.

5 Tabela 10: Esquema de dose e administração de TACI-Fc5

<b>Coorte</b>	<b>Regime farmacológico</b>	<b>Via de administração</b>
<b>Coorte 1</b> (dose única de 70 mg, 8 pacientes)	70 mg de TACI-Fc5 ou de placebo correspondente no Dia 1	1 injeção subcutânea de 0,5 ml de manhã
<b>Coorte 2</b> (3 x doses de 70 mg repetidas em 1 mês, 12 pacientes)	70 mg de TACI-Fc5 ou de placebo correspondente nos Dias 1, 15 e 29	1 injeção subcutânea de 0,5 ml de manhã
<b>Coorte 3</b> (dose única de 210 mg, 8 pacientes)	210 mg de TACI-Fc5 ou de placebo correspondente no Dia 1	1 injeção subcutânea de 1,5 ml de manhã
<b>Coorte 4</b> (3 x doses de 210 mg repetidas em 1 mês, 12 pacientes)	210 mg de TACI-Fc5 ou de placebo correspondente no Dias 1, 15 e 29	1 injeção subcutânea de 1,5 ml de manhã
<b>Coorte 5</b> (dose única de 630 mg, 8 pacientes)	630 mg de TACI-Fc5 ou de placebo correspondente no Dia 1	3 injeções subcutâneas de 1,5 ml de manhã
<b>Coorte 6</b> (7 x dose de 420mg repetidas em 3 meses, 24 pacientes)	420 mg de TACI-Fc5 ou de placebo correspondente nos Dias 1, 15, 29, 43, 57, 71 e 85	2 injeções subcutâneas de 1,5 ml de manhã

Exemplo 4

Procedimento para injeção de TACI- Fc5.

Se a via de administração subcutânea for escolhida para liberação de TACI-Fc5, a molécula, nesse caso, é injetada por via subcutânea na



parede abdominal e há um rodízio de locais de acordo com o diagrama abaixo (Figura 2). É tomado cuidado para não injetar em um vaso sanguíneo. É extremamente importante o rodízio de locais da injeção para manter a pele saudável. Injeções repetidas no mesmo ponto podem causar a formação de cicatrizes e endurecimento do tecido gorduroso. As áreas seguintes devem ser utilizadas para injeção e feito rodízio da forma como segue (Figura 2): primeira injeção na área externa superior esquerda (Figura 2, posição 1); segunda injeção na área externa inferior direita (Figura 2, posição 2); terceira injeção na área externa inferior esquerda (Figura 2, posição 3); quarta injeção na área externa superior direita (Figura 2, posição 4); e quinta injeção na área mediana inferior (Figura 2, posição 5). O esquema de rodízio supramencionado é repetido para injeções adicionais.

Para pacientes que requeiram mais de uma injeção por dose, a injeção inicia na posição de meio dia, da área designada para aquela injeção (conforme a Figura 2, locais 1 - 5), e, em seguida, as injeções giram seqüencialmente no sentido horário, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas e/ou a posição de 10 horas, conforme necessário para o número exigido de injeções por dose. As injeções precisam ser aplicadas com uma distância de pelo menos 2,5 cm (1 polegada) entre si, e injetadas tão próximas quanto possível, em termos de tempo. Não é permitida injeção de mais de 1,5 ml em um único local de aplicação. Se um paciente sentir dificuldades em aplicar injeções no abdômen, áreas alternativas que podem ser injetadas são a face anterior de coxas e região superior de braços.

Sintomas comuns de reações no local da injeção incluem irritação, sensibilidade, calor e/ou hiperemia no local da injeção.

#### Exemplo 5

Protocolo de escalonamento de dose para administração de molécula de TACI-Ig

Este protocolo de escalonamento de dose para avaliação de TACI-Fc5 em AR possibilita a dosagem de seis pacientes na primeira coorte. A primeira coorte recebe uma dose única de 70 mg, seguida por 4 semanas de observação. Uma Comissão de Revisão de Dados de Segurança (SRB)

analisa os dados de segurança coletados quatro semanas após a dose, e por recomendação da SRB, a dose é aumentada para 210 mg, administrada durante 1 mês (a segunda coorte) ou sob a forma de dose única (a terceira coorte). Nove pacientes recebem a dose da segunda coorte e seis pacientes, da terceira coorte. A SRB analisa, em seguida, os dados de segurança coletados da terceira coorte, seis semanas após a dose, e por recomendação da SRB, a dose é aumentada para 630 mg, administrada durante 1 mês (a quarta coorte) ou sob a forma de dose única (a quinta coorte). Nove pacientes recebem a dose da quarta coorte e seis pacientes, da quinta coorte. A SRB analisa, em seguida, os dados de segurança coletados da quinta coorte, seis semanas após a dose, e por recomendação da SRB, a coorte seis recebe 2940 mg por período de 3 meses. Dezoito pacientes recebem a dose da sexta coorte.

As doses escolhidas são justificadas com base em estudos de toxicologia SC de doses repetidas em macacos cynomolgus e camundongos que indicaram que TACI-Fc5 foi bem tolerado nas doses de 5, 20 e 80 mg/kg. Exceto pelos efeitos sobre células imunes que são os resultados esperados da atividade farmacodinâmica de TACI-Fc5, os únicos achados foram uma diminuição significativa de proteína total plasmática e uma discreta reação subcutânea com a dose SC mais alta de 80 mg/kg, em macacos, e hiperatividade transitória no teste de Irwin em camundongos na dose de 80 mg/kg. Por conseguinte, 20 mg/kg é a dose mais alta não associada com achados adversos em ambas as espécies.

Adicionalmente, doses de 2,1, 70, 210 e 630 mg foram administradas, sob a forma de doses únicas subcutâneas, em voluntários saudáveis. Não houve questões relacionadas com segurança ou tolerância levantadas nestas doses. Com base em dados pré-clínicos e os achados preliminares em voluntários saudáveis, 70 mg foram selecionados como dose inicial apropriada para pacientes com AR.

As doses e esquemas de administração previstos nos pacientes com AR, no presente estudo, variam de 1 mg/kg a 9 mg/kg, duas vezes ao mês (quando normalizado para uma pessoa com 70 kg), os quais se ajustam

bem com o intervalo de doses estudado em macacos. A administração repetida, em macacos, revelou uma relação clara entre dose e resposta.

#### Exemplo 6

Avaliação de progressão da doença.

5 A progressão da doença é medida pelo Escore de Atividade da Doença, Avaliação Global da Atividade da Doença do Médico, Avaliação Global da Atividade da Doença do Paciente, rigidez matinal e avaliação de dor, atividade da doença e função física pelo paciente.

10 O Escore de Atividade da Doença (DAS) é um índice combinado que foi desenvolvido para medir a atividade da doença em pacientes com AR. O seu uso foi amplamente validado para estudos clínicos em combinação com os critérios de resposta EULAR. O DAS original incluía o índice articular de Ritchie, a contagem de 44 articulações com edema, o VHS e uma avaliação geral de saúde em VAS. Após validação da contagem não graduada de 28 articulações quanto à sensibilidade e edema, o DAS 28 foi desenvolvido incluindo contagens de 28 articulações. Os resultados de DAS e de DAS28 não são diretamente alternados.

15 Utilizando o DAS, vários limiares foram desenvolvidos para atividade alta da doença, atividade baixa da doença ou mesmo remissão. Além disso, foram desenvolvidos critérios de resposta com base no DAS, de forma que, quando o DAS de um paciente é medido em dois intervalos de tempo, a resposta clínica pode ser avaliada.

20 As variáveis da doença, necessárias para calcular o DAS28, são: contagem de articulação com edema (28 articulações); contagem de articulações sensíveis (28 articulações); VHS (mm após 1 hora); Saúde geral do paciente (GH) ou atividade global da doença (escala de analogia visual (VAS) de 100 mm) – neste estudo, denominada Avaliação Global de Atividade da Doença do Paciente. Escores de vinte e oito articulações sensíveis e com edema incluem as seguintes articulações: ombros, cotovelos, punhos, 25 articulações metacarpofalangeanas, articulações interfalangeanas proximais e os joelhos.

30 A fórmula utilizada para calcular o DAS é a seguinte: DAS28 =

$0,56 * \text{sqrt}(28 \text{ sensíveis}) + 0,28 * \text{sqrt}(28 \text{ com edema}) + 0,70 * \ln(\text{VHS}) + 0,014 * \text{GH}$ . O DAS fornece um número em uma escala de 0 a 10, indicando a atividade atual da artrite reumatóide. DAS28 acima de 5,1 significa alta atividade da doença, e DAS28 abaixo de 3,2 indica baixa atividade da doença. Considera-se ter sido atingida remissão quando o DAS28 é inferior a 2,6. Comparando o DAS28 de um paciente em dois instantes de tempo diferentes, é possível definir melhora ou resposta.

10 A Avaliação de Dor do Paciente e a Avaliação Global de Atividade da Doença do Paciente são avaliadas empregando uma escala horizontal de analogia visual (VAS).

A Avaliação Global de Atividade da Doença do Médico mede a atividade atual da doença do paciente, empregando uma escala graduada de 5 pontos (escala de Likert), onde 0 = assintomático, 1 = leve, 2 = moderado, 3 = grave e 4 = muito grave.

15 A Avaliação da Função Física do Paciente é medida com base na resposta do paciente a um Questionário de Avaliação de Saúde (HAQ) que interroga o paciente em relação a sua capacidade ao longo da semana anterior para executar tarefas diárias, como vestir-se e arrumar-se, comer, andar e se o paciente requer auxílio ou equipamentos para executar as tarefas supramencionadas.

20 A presença de rigidez matinal é avaliada interrogando o paciente e, se presente, a duração é registrada.

## Listagem de Sequências

<110> Herve, Broly  
 Busby, Sharon  
 Gross, Jane  
 Visich, Jennifer  
 Nestorov, Ivan

<120> "MÉTODOS PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS AUTO-IMUNES COM UMA MOLÉCULA DE FUSÃO TACI-IG".

<130> 05558.0041.00PC00

<150> US 60/747,270  
 <151> 2006-05-15

<160> 2

<170> PatentIn version 3.4

<210> 1  
 <211> 154  
 <212> PRT  
 <213> TACI

<400> 1

Met Ser Gly Leu Gly Arg Ser Arg Arg Gly Gly Arg Ser Arg Val Asp  
 1 5 10 15

Gln Glu Glu Arg Phe Pro Gln Gly Leu Trp Thr Gly Val Ala Met Arg  
 20 25 30

Ser Cys Pro Glu Glu Gln Tyr Trp Asp Pro Leu Leu Gly Thr Cys Met  
 35 40 45

Ser Cys Lys Thr Ile Cys Asn His Gln Ser Gln Arg Thr Cys Ala Ala  
 50 55 60

Phe Cys Arg Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu Gln Gly Lys Phe Tyr Asp  
 65 70 75 80

His Leu Leu Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala Ser Ile Cys Gly Gln His  
 85 90 95

Pro Lys Gln Cys Ala Tyr Phe Cys Glu Asn Lys Leu Arg Ser Pro Val  
 100 105 110

Asn Leu Pro Pro Glu Leu Arg Arg Gln Arg Ser Gly Glu Val Glu Asn  
 115 120 125

Asn Ser Asp Asn Ser Gly Arg Tyr Gln Gly Leu Glu His Arg Gly Ser  
 130 135 140

Glu Ala Ser Pro Ala Leu Pro Gly Leu Lys  
 145 150

<210> 2

&lt;211&gt; 348

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human Immunoglobulin-Constant Domain Fc5

&lt;400&gt; 2

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly  
 1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Leu Ser Gln Glu Ile His Ala Glu Leu Arg Arg  
 20 25 30

Phe Arg Arg Ala Met Arg Ser Cys Pro Glu Glu Gln Tyr Trp Asp Pro  
 35 40 45

Leu Leu Gly Thr Cys Met Ser Cys Lys Thr Ile Cys Asn His Gln Ser  
 50 55 60

Gln Arg Thr Cys Ala Ala Phe Cys Arg Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu  
 65 70 75 80

Gln Gly Lys Phe Tyr Asp His Leu Leu Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala  
 85 90 95

Ser Ile Cys Gly Gln His Pro Lys Gln Cys Ala Tyr Phe Cys Glu Asn  
 100 105 110

Lys Leu Arg Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
 115 120 125

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 130 135 140

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 145 150 155 160

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe  
 165 170 175

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 180 185 190

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 195 200 205

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 210 215 220

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
 225 230 235 240

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 245 250 255

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
 260 265 270

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 275 280 285

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 290 295 300

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 305 310 315 320

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 325 330 335

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 340 345

## REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratamento de artrite reumatóide em um paciente, compreendendo a administração, para o paciente, de uma composição contendo uma molécula de fusão, incluindo:

- 5 (i) domínio extracelular de TACI ou fragmento deste que se liga a BlyS; e  
(ii) um domínio constante de imunoglobulina humana  
em quantidade efetiva para tratar a referida artrite.

2. Método da reivindicação 1, em que o referido domínio extracelular de TACI possui uma seqüência definida como SEQ ID NO: 1.

10 3. Método da reivindicação 1, em que o referido domínio extracelular de TACI é, pelo menos, 50 % idêntico a SEQ ID NO: 1.

4. Método da reivindicação 1, em que o referido domínio constante de imunoglobulina humana possui uma seqüência definida como SEQ ID NO: 2.

15 5. Método da reivindicação 1, em que a referida composição é administrada em quantidade que varia de aproximadamente 0,01 mg por kg de peso corporal do paciente a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal.

20 6. Método da reivindicação 5, em que a referida composição é administrada na referida quantidade, 7 vezes durante um intervalo de 12 semanas.

25 7. Método da reivindicação 5, em que a referida composição é administrada na referida quantidade, 7 vezes durante um intervalo de 12 semanas, seguido por administrações adicionais da referida composição na referida quantidade.

8. Método da reivindicação 5, em que a referida composição é administrada na referida quantidade 3 vezes, durante um intervalo de quatro semanas.

30 9. Método da reivindicação 5, em que a referida composição é administrada na referida quantidade 3 vezes, durante um intervalo de quatro semanas, seguido por administrações adicionais da referida composição na referida quantidade.



10. Método da reivindicação 5, em que a referida composição é administrada na referida quantidade, a cada duas semanas por 2 a 30 semanas.

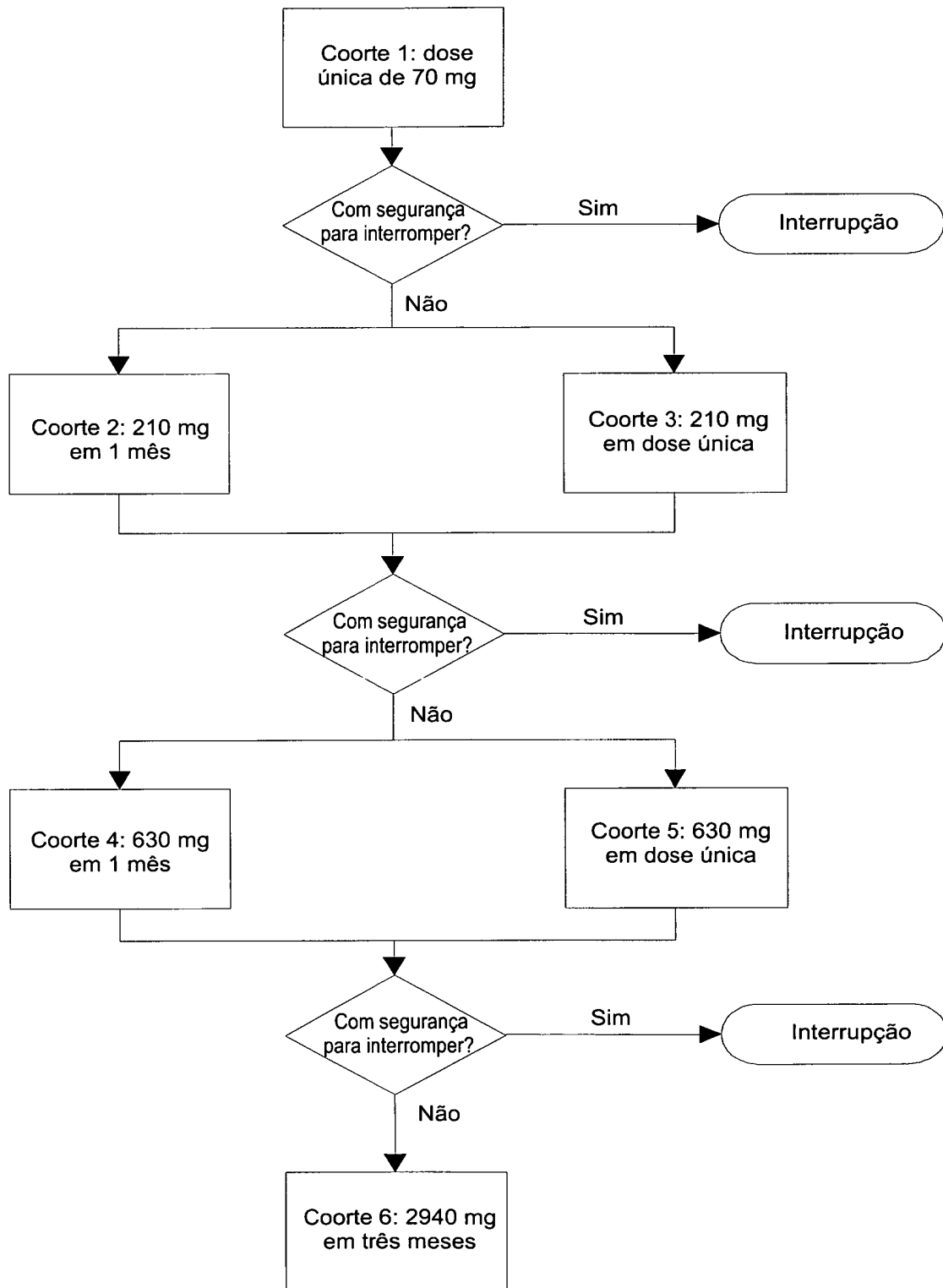
5 11. Método da reivindicação 1, em que o referido método compreende ainda a co-administração, para o paciente, de um segundo medicamento.

10 12. Método da reivindicação 11, em que o referido segundo medicamento é selecionado do grupo constituído por hidroxiclóroquina, sulfasalazina, metotrexato, leflunomida, rituximab, infliximab, azatioprina, D-penicilamina, ouro (oral ou intramuscular), minociclina, ciclosporina, um corticosteróide, um fármaco antiinflamatório não esteroide (NSAIDS), uma citocina, uma anti-citocina e um interferon.

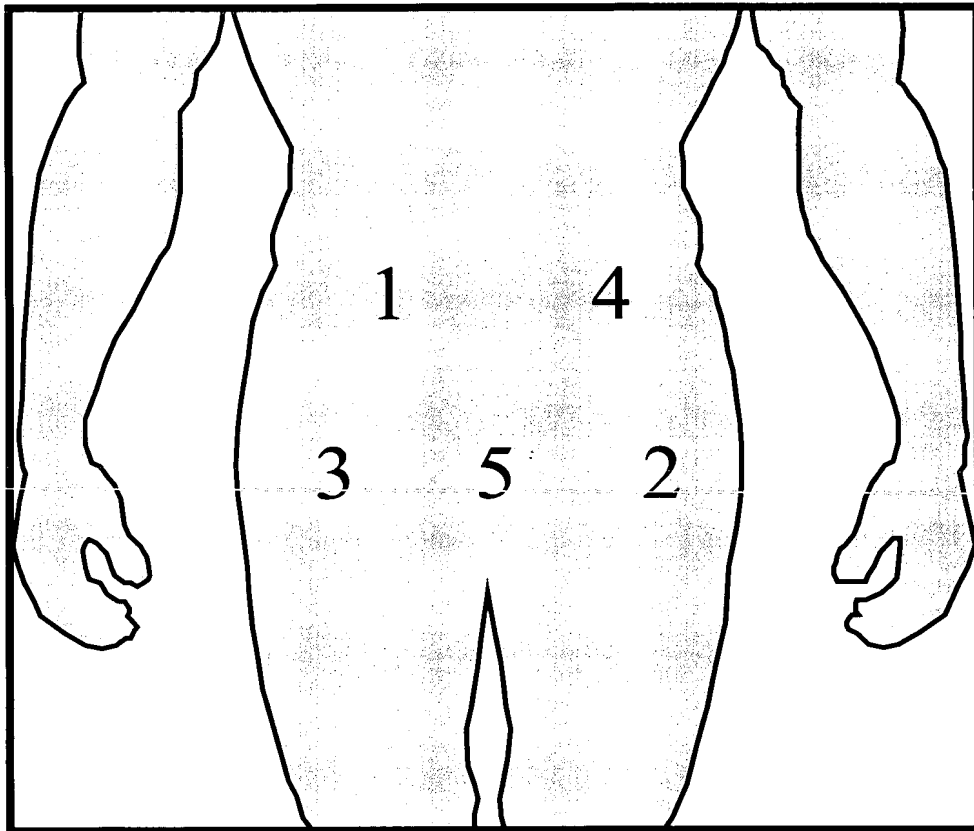
13. Método da reivindicação 1, em que a referida composição é administrada por via subcutânea, oral ou intravenosa.

15 14. Método da reivindicação 1 no qual o paciente é humano.

1/2



**Fig.1**



***Fig.2***

## RESUMO

Patente de Invenção: "MÉTODOS PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS AUTO-IMUNES COM UMA MOLÉCULA DE FUSÃO TACI-IG".

- Em várias concretizações, a presente invenção provê métodos e
- 5 composições para tratamento de doenças auto-imunes, incluindo artrite reumatóide, por exemplo, compreendendo a administração para um paciente, em necessidade deste tratamento, de uma molécula de fusão TACI-Ig. Em uma concretização, a molécula de fusão TACI-Ig é administrada em
- 10 quantidade suficiente para retardar, suprimir ou inibir funções induzidas por proliferação de BlyS e APRIL.