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

**(11) PI 0620946-7 B1**

**(22) Data do Depósito:** 28/12/2006

**(45) Data de Concessão:** 09/04/2019

**(54) Título:** ANTICORPO IL-23P19 ISOLADO, COMPOSIÇÃO, MÉTODO IN VITRO, ARTIGO DE FABRICAÇÃO, MOLÉCULA E VETOR DE ÁCIDO NUCLEICO, CÉLULA HOSPEDEIRA PROCARIÓTICA

**(51) Int.Cl.:** A61K 39/395; G01N 33/567.

**(30) Prioridade Unionista:** 29/12/2005 US 60/754,889.

**(73) Titular(es):** CENTOCOR, INC..

**(72) Inventor(es):** JACQUELINE BENSON; JILL CARTON; MARK CUNNINGHAM; YEVGENIYA I. ORLOVSKY; ROBERT RAUCHENBERGER; RAYMOND SWEET.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2006062674 de 28/12/2006

**(87) Publicação PCT:** WO 2007/076524 de 05/07/2007

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 30/06/2008

**(57) Resumo:** ANTICORPOS ANTI-IL-23 HUMANOS, COMPOSIÇÕES, MÉTODOS E USO. A presente invenção refere-se a um anticorpo anti-IL-23p1 9, incluindo ácidos nuclélcos isolados que codificam pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, vetores, células hospedeiras, e métodos de produção e uso destes têm aplicações em composições, métodos e dispositivos de diagnóstico e/ou terapêutico.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"ANTICORPO IL-23P19 ISOLADO, COMPOSIÇÃO, MÉTODO IN VITRO, ARTIGO DE FABRICAÇÃO, MOLÉCULA E VETOR DE ÁCIDO NUCLEICO, CÉLULA HOSPEDEIRA PROCARIÓTICA".**

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se aos anticorpos, incluindo partes ou variantes específicas, específicas parpelo menos uma proteína IL-23 ou seu fragmento, assim como anticorpos antiidiótipos, e ácidos nucléicos que codificam os anticorpos anti-IL-23p19, ácidos nucléicos complementares, vetores, células hospedeiras, e os seus métodos de elaboração e de utilização, incluindo formulações terapêuticas, administração e dispositivos.

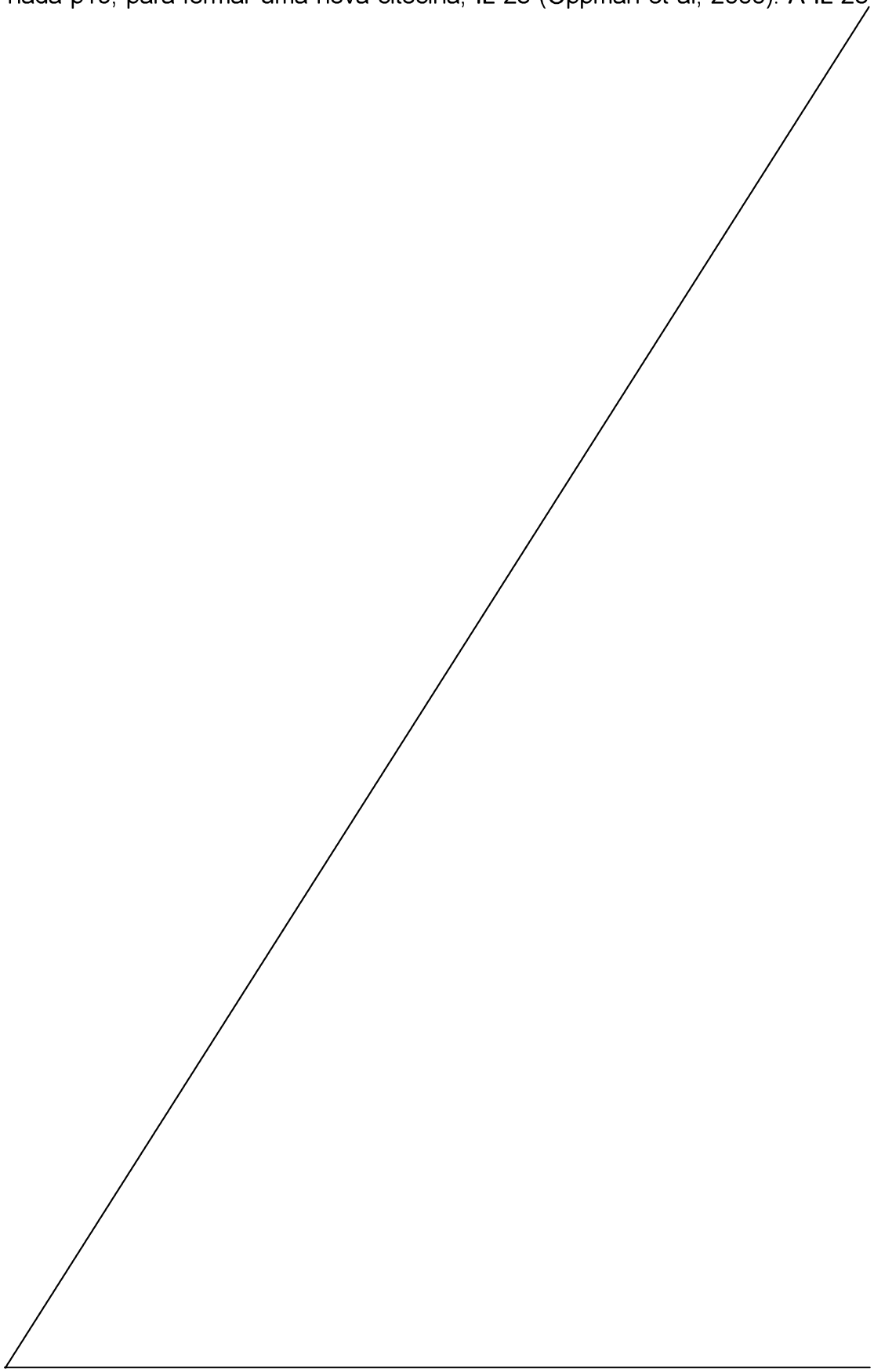
ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A interleucina (IL) 12 é uma citocina secretada heterodimérica composta de 2 subunidades de proteína glicosiladas ligadas a dissulfeto, designadas p35 e p40 com relação a seus pesos moleculares aproximados. A IL-12 é produzida principalmente por células que apresentam antígeno e impulsiona a imunidade mediada pela célula mediante a ligação a um complexo receptor de duas cadeias que é expresso na superfície das células T ou células exterminadoras naturais (NK). A cadeia beta-1 do receptor de IL-12 (IL-12rβ1) se liga à subunidade p40 da IL-12, proporcionando a interação primária entre IL-12 e seu receptor. No entanto, é a ligação de IL-12p35 da segunda cadeia de receptor, IL-12rβ2, que confere a sinalização intracelular (por exemplo, fosforilação STAT4) e ativação da célula que carrega o receptor (Presky et al, 1996). A IL-12 sinalizando concorrente com a apresentação de antígeno é suposta de invocar a diferenciação de células T em direção ao fenótipo ajudante T1 (Th1), caracterizado pela produção de interferon gama (IFNγ) (Trinchieri, 2003). As células Th1 são supostas de promover a imunidade para alguns agentes patogênicos intracelulares, gerar isótipos de anticorpo fixadores complementares, e contribuir com a imunovigilância de tumor. Assim, a IL-12 é suposta de ser um componente significativo para hospedar mecanismos imunológicos de defesa.

Foi descoberto que a subunidade de proteína p40 da IL-12

Segue-se folha 1a

também pode se associar com uma subunidade de proteína separada, designada p19, para formar uma nova citocina, IL 23 (Oppman et al, 2000). A IL-23



Segue-se folha 2

também sinaliza através de um complexo de receptor de duas cadeias. Visto que a subunidade p40 é partilhada entre IL-12 e IL-23, segue-se que a cadeia de IL-12rβ1 também é partilhada entre IL-12 e IL-23. No entanto, é a ligação de IL-23p19 do segundo componente do complexo de receptor de IL-23, IL-23R, que confere a sinalização intracelular específica de IL-23 (por exemplo, fosforilação STAT3) e subseqüente produção de IL-17 pelas células T (Parham et al, 2002; Aggarwal et al. 2003). Estudos recentes têm demonstrado que as funções biológicas da IL-23 são distintas daquelas da IL-12, apesar da semelhança estrutural entre as duas citocinas (Langrish et al, 2005).

A regulação anormal do IL-12 e as populações de célula Th1 têm sido associadas com muitas doenças mediadas imunológicas visto que a neutralização da IL-12 por anticorpos é eficaz no tratamento de modelos animais de psoríase, esclerose múltipla (MS), artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal, diabetes melito dependente de insulina (tipo 1), e uveíte (Leonard et al, 1995; Hong et al, 1999; Malfait et al, 1998; Davidson et al, 1998). No entanto, visto que estes estudos orientaram a subunidade p40 compartilhada, tanto IL-12 quanto IL-23 foram neutralizadas *in vivo*. Portanto, não ficou claro se a IL-12 ou a IL-23 mediou a doença, ou se ambas as citocinas precisavam ser inibidas para alcançar a supressão da doença. Estudos recentes têm confirmado através de camundongos deficentes de IL-23p19 ou a neutralização de anticorpos específicos de IL-23 que a inibição de IL-23 pode proporcionar benefícios equivalentes como estratégias de anti-IL-12p40 (Cua et al, 2003, Murphy et al, 2003, Benson et al 2004). Portanto, existe evidência crescente com relação ao papel específico da IL-23 na doença mediada imunológica. A neutralização de IL-23 sem a inibição das vias de IL-12 poderá fornecer terapia eficaz de doença mediada imunológica com impacto limitado no mecanismo imune de defesa hospedeiro importante. Isto representará uma melhora significativa sobre as opções terapêuticas correntes.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece mamíferos isolados, incluindo, sem

limitação, ser humano, anticorpos que se ligam à subunidade p19 da IL-23, anticorpos anti-IL-23p19 (também referidos como anticorpos IL-23p19), imunoglobulinas, fragmentos, produtos de clivagem e outras partes específicas e suas variantes, assim como composições de anticorpo anti-IL-23p19, anticorpos antiidiótipos IL-23p19, ácidos nucléicos de codificação ou complementares, vetores, células hospedeiras, composições, combinações, formulações, dispositivos, animais transgênicos, plantas transgênicas, e métodos de sua produção e uso.

A presente invenção fornece, em um aspecto, moléculas de ácido nucléico isoladas compreendendo, complementares, ou que hibridizam, um polinucleotídeo que codifica anticorpos anti-IL-23p19 específicos ou anticorpos antiidiótipos, compreendendpelo menos uma seqüência específica, domínio, ou parte variante destes. A presente invenção ainda fornece vetores recombinantes que compreendem ditas moléculas de ácido nucléico de anticorpos anti-IL-23p19, células hospedeiras que contendo tais ácidos nucléicos e/ou vetores recombinantes, assim como métodos de produção e/ou utilização de tais ácidos nucléicos de anticorpo, vetores e/ou células hospedeiras.

A presente invenção fornece também pelo menos um método para expressar pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, ou anticorpo antiidiótipo IL-23p19, em uma célula hospedeira, que compreende a cultura de uma célula hospedeira como aqui descrita sob condições em que pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 é expresso em quantidades detectáveis e/ou recuperáveis.

A presente invenção fornece também pelo menos uma composição que compreende (a) um anticorpo anti-IL-23p19 isolado que codifica ácido nucléico e/ou anticorpo como aqui descrito, e (b) um veículo ou diluente adequado e/ou farmaceuticamente aceitável.

A presente invenção ainda fornece pelo menos um método ou composição de anticorpo anti-IL-23p19, para administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz para modular ou tratar pelo menos uma condição relacionada com a IL-23p19 em uma célula, tecido, órgão, animal ou pacien-

te e/ou, antes de, subseqüente a, ou durante uma condição relacionada, como é conhecida na técnica e/ou como aqui descrita.

A presente invenção também fornece pelo menos uma composição, dispositivo e/ou método de liberação de uma quantidade terapêutica ou profilaticamente eficaz de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, de acordo com a presente invenção.

A presente invenção ainda fornece pelo menos um método ou composição de anticorpo anti-IL-23p19, para o diagnóstico de pelo menos uma condição relacionada com a IL-23 em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente e/ou, antes de, subseqüente a, ou durante uma condição relacionada, como conhecida na técnica e/ou como aqui descrita.

A presente invenção também fornece pelo menos uma composição, dispositivo e/ou método de liberação para o diagnóstico de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, de acordo com a presente invenção.

Também é fornecido um dispositivo médico, incluindpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 de mamífero isolado da invenção, em que o dispositivo é adequado para colocar em contato ou administrar pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, anticorpo anti-idiotípico de IL-23p19, molécula de ácido nucléico, composto, proteína e/ou composição.

Também é fornecido um artigo de fabricação para uso humano farmacêutico ou diagnóstico, que compreende material de embalagem e um recipiente compreendendo uma solução ou uma forma liofilizada de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 isolado da presente invenção. O artigo de fabricação pode opcionalmente ter o recipiente como um componente de um dispositivo ou sistema de liberação.

A presente invenção ainda fornece qualquer invenção aqui descrita.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A figura 1A mostra que os anticorpos IL-23p19 humanos se ligam especificamente ao monômero hrIL-23 e não hrIL-12 ou hrp40. Um anticorpo anti-IL-12/IL-23 p40 é mostrado se ligar ao monômero IL-23, IL-12 e o p40.

A figura 1B mostra que os anticorpos IL-23p19 humanos se ligam à IL-23 humana, mas não à IL-23 de murino ou suas subunidades.

A figura 2 mostra a IL-23 que se liga a dois dos anticorpos de IL-23p19 imobilizados na placa da invenção.

A figura 3A mostra que os anticorpos MOR04083 e MOR04190 bloqueiam a ligação de IL-23/IL-23R normal.

A figura 3B mostra que os anticorpos MOR04083 e MOR04190 não bloqueiam a ligação de IL-23/IL-12Rβ1 normal.

A figura 3C mostra que os anticorpos MOR04083, MOR04190 e MOR04217 não inibem a liação de IL-12 na ligação de IL-12Rβ1-Fc.

A figura 4 mostra que os anticorpos de IL-23p19 MOR04083 e MOR04190 da invenção inibem a fosforilação STAT 3 mediada por hrIL-23.

A figura 5A mostra que os anticorpos de IL-23p19 MOR04083 e MOR04190 da invenção inibem produção de IL-17 mediada por hrIL-23 recombinante.

A figura 5B mostra que os anticorpos de IL-23p19 MOR04083 e MOR04190 da invenção inibem produção de IL-17 mediada por hrIL-23 nativa.

A figura 5C mostra que os anticorpos de IL-23p19 MOR04083 e MOR04190 da invenção inibem a produção de IL-17 mediada por IL-23 de macaco cinomólogo nativo.

A figura 6 mostra que os anticorpos de IL-23p19 MOR04083 e MOR04190 da invenção não inibem a produção de IFNγ mediada por hrIL-12.

As figuras 7A-C mostram que os anticorpos de IL-23p19 MOR04083, MOR04190 e MOR04217 da invenção compete reciprocamente um com o outro para a ligação à huIL-23.

A figura 8 mostra que os anticorpos de IL-23p19 MOR05028, 05038, 05040, 05042, 05045, 05049 e 05053 da invenção inibem a produção de IL-17 mediada por hrIL-23 recombinante.

A figura 9 mostra que os anticorpos de IL-23p19 MOR05028, 05038, 05040, 05042, 05045, 05049 e 05053 da invenção bloqueiam a liga-

ção de IL-23/IL-23R normal.

A figura 10 mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção se ligam especificamente ao monômero de hrIL-23 e não hrIL-12 ou hrp40, comparáveis com o anticorpo monoclonal de murino anti-IL-23p19, mAb23A. O anticorpo de anti-IL-12/IL-23p40 mAb12A é mostrado para se ligar a IL-23, IL-12 e ao monômero p40.

A figura 11A mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção bloqueiam a ligação de IL-23/IL-23R normal.

A figura 11B mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção não bloqueiam a ligação de IL-23/IL-12R normal.

A figura 11C mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção não inibem a ligação de IL-12 à ligação de IL-12Rβ1.

A figura 12 mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção não inibem a produção de INFγ induzida por IL-12 a partir das células NK92MI.

A figura 13 mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção inibem a produção de IL-17 mediada por hrIL-23 recombinante.

figura 14 mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção inibem a produção de IL-17 mediada por hrIL-23 nativa.

A figura 15 mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção inibem a produção de IL-17 mediada por IL-23 de macaco cinomólogo nativo.

A figura 16A mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção e mAb23A competem com a ligação de IL-23 à mAb23A imobilizada.

A figura 16B mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção e, em uma menor extensão, mAb23A compete com a ligação de IL-23 com a $5040^{Q/EV}$ mAb imobilizada.

A figura 16C mostra que os anticorpos de IL-23p19 $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ da invenção e mAb23A competem com a ligação de IL-23 com a $3759^{EQ/QS}$ mAb imobilizada.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece anticorpos anti-IL-23p19 isolados, recombinantes e/ou sintéticos, incluindo, sem limitação, mamíferos (por exemplo, anticorpos humanos) e anticorpos de IL-23p19 antiidiótipos deste, assim como composições e moléculas de ácido nucléico de codificação compreendendpelo menos polinucleotídeos que codificam pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 ou anticorpo antiidiótipo. A presente invenção ainda inclui, mas não é limitada a eles, métodos de produção e uso de tais ácidos nucléicos e de anticorpos e anticorpos antiidiótipos, incluindo composições de diagnóstico e terapêuticas, métodos e dispositivos.

Como aqui utilizado, um "anticorpo anti-IL-23p19", "anticorpo de IL-23p19", "parte de anticorpo de anti-IL-23p19", ou "fragmento de anticorpo anti-IL-23p19" e/ou "variante de anticorpo anti-IL-23p19" e outros mais incluem em qualquer proteína ou peptídeo contendo molécula que compreende pelo menos uma parte de uma molécula de imunoglobulina, tal como, mas não limitado a ela, pelo menos uma região determinante da complementaridade (CDR) de uma cadeia pesada ou leve ou uma parte de ligação ao ligando desta, uma região variável de cadeia pesada ou cadeia leve, uma região constante de cadeia pesada ou cadeia leve, um região estrutural, ou qualquer parte destas, ou pelo menos uma parte de um receptor de IL-23 ou proteína de ligação, que pode ser incorporada em um anticorpo da presente invenção. Tal anticorpo opcionalmente ainda afeta um ligando específico, tal como, mas não limitado a este, onde tal anticorpo modula, diminui, aumenta, antagoniza, agoniza, atenua, alivia, bloqueia, inibe, revoga e/ou interfere com pelo menos uma atividade ou ligação de IL-23, ou com a atividade ou ligação do receptor de IL-23, *in vitro*, *in situ* e/ou *in vivo*. Como um exemplo não limitativo, um anticorpo anti-IL-23p19 adequado, porção ou variante específica da presente invenção pode vincular pelo menos uma molécula de IL-23, ou suas partes específicas, variantes ou domínios. Um anticorpo anti-IL-23p19 adequado, parte específica, ou variante também pode opcionalmente afetar pelo menos um da atividade ou função de IL-23p19, tal como, mas não limitado a estes, RNA, síntese de DNA ou proteína, liberação de IL-

23, sinalização do receptor de IL-23, clivagem de IL-23 na membrana, atividade de IL-23, produção e/ou síntese de IL-23.

O termo "anticorpo" é ainda destinado a abranger anticorpos, fragmentos de digestão, partes específicas e variantes deste, incluindo, sem limitação, miméticos de anticorpo ou compreendendo partes de anticorpos que imitam a estrutura e/ou função de um anticorpo ou fragmento específico ou parte deste, incluindo, sem limitação, anticorpos de cadeia única, anticorpos de domínio único, e os seus fragmentos. Os fragmentos funcionais incluem de fragmentos de ligação ao antígeno que se ligam a uma humana. Por exemplo, fragmentos de anticorpo capazes de ligação à IL-23p19 ou partes desta, incluindo, mas não limitado a eles, fragmentos de Fab (por exemplo, mediante a digestão de papaína), Fab' (por exemplo, mediante a digestão de pepsina e redução parcial) e $F(ab')_2$ (por exemplo, mediante a digestão de pepsina), facb (por exemplo, mediante a digestão de plasmina), pFc' (por exemplo, mediantem a digestão de pepsina ou plasmina), Fd (por exemplo, mediante a digestão de pepsina, redução e reagregação parciais), Fv ou scFv (por exemplo, por técnicas de biologia molecular), são incluídos pela invenção (vide, por exemplo, Colligan, Immunology, supra).

Tais fragmentos podem ser produzidos pela clivagem enzimática, técnicas sintéticas ou recombinantes, como são conhecidas na técnica e/ou como aqui descritas. Os anticorpos também podem ser produzidos em uma variedade de formas truncadas utilizando genes de anticorpo em que uma ou mais codons de interrupção foram introduzidos a montante do sítio de interrupção natural. Por exemplo, um gene de combinação que codifica uma parte de cadeia pesada de $F(ab')_2$ pode ser designado a incluir seqüências de DNA que codificam o domínio de $CH_1$ e/ou região da dobradição da cadeia pesada. As várias partes de anticorpos podem ser unidas entre si quimicamente por técnicas convencionais, ou podem ser preparadas como uma proteína contígua utilizando técnicas de engenharia genética.

O termo "anticorpo humano", como aqui usado, destina-se a incluir anticorpos tendo regiões variáveis e constantes derivadas da ou intimamente em combinação com as seqüências de imunoglobulina da linha

germinativa humana. Os anticorpos humanos da invenção podem incluir resíduos de aminoácido não codificados pelas seqüências de imunoglobulina da linha germinativa humana (por exemplo, mutações introduzidas ao acaso ou mutagênese específica do sítio in vitro ou em mutação somática in vivo). Assim, como utilizado neste documento, o termo "anticorpo humano" refere-se a um anticorpo em que substancialmente cada parte da proteína (por exemplo, CDR, estrutura, $C_L$, domínios de $C_H$ (por exemplo, $C_H1$, $C_H2$, $C_H3$), dobradiça, ($V_L$, $V_H$)) é substancialmente semelhante a um anticorpo da linha germinativa humana. Os anticorpos humanos foram classificadas em agrupamentos com base em suas similaridades de seqüência de aminoácido, por exemplo, vide http://people.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s/. Assim, usando uma pesquisa de similaridade de seqüência, um anticorpo análogo seqüência linear similar pode ser escolhido como um modelo para criar "anticorpos humanizado".

"Humanização" (também chamado Reshaping ou enxertia de CDR) é atualmente uma técnica bem estabelecida para reduzir a imunogenicidade de anticorpos monoclonais (mAbs) a partir de fontes xenogênicas (comumente roedores) e para a melhoria as funções efetoras (ADCC, ativação complementar, ligação de C1q). O mAb planejado é construído utilizando as técnicas de biologia molecular, porém a enxertia de CDR simples do regiões determinantes da complementaridade de roedor (CDRs) nas estruturas humanas muitas vezes resulta em perda de afinidade e/ou especificidade de ligação do mAb original. A fim de humanizar um anticorpo, a concepção do anticorpo humanizado inclui variações tais como substituições de aminoácido conservadoras nos resíduos dos CDRs, e substituição de retorno dos resíduos do mAb de roedor nas regiões estruturais humanas (mutações retrógradas). As posições podem ser constatadas ou identificadas pela comparação de seqüência para análise estrutural ou pela análise de um modelo de homologia da estrutura em 3D das regiões variáveis. O processo de maturação por afinidade tem mais recentemente utilizado as bibliotecas fago para variar os aminoácidos nas posições escolhidas. Similarmente, muitas abordagens têm sido usadas para escolher as estruturas humanas mais apropriadas para enxertar os CDRs em roedor. Quando os da-

dos dos parâmetros conhecidos para estruturas de anticorpo aumentam, o mesmo acontece com a sofisticação e o requinte destas técnicas. As seqüências de consenso ou da linha germinativa de um anticorpo isolado ou fragmentos das seqüências estruturais dentro de cada região variável de cadeia leve ou pesada de diferentes mAbs humanos podem ser usadas. Uma outra abordagem para a humanização é modificar apenas os resíduos superficiais da seqüência de roedor com os resíduos mais comuns observados nos mAbs humanos e foi denominado "recapeamento" ou "folheamento". As seqüências de Ig humanas conhecidas são descritas, por exemplo, www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi; www.ncbi.nih.gov/igblast; www.atcc.org/phage/hdb.html; www.kabatdatabase.com/top.html; www.antibodyresource.com/onlinecomp.html; www.appliedbiosystems.com; www.biodesign.com; antibody.bath.ac.uk; www.unizh.ch; www.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health (1983), cada um aqui inteiramente incorporado por referência. Muitas vezes, o anticorpo humano ou humanizado é substancialmente não-imunogênicos em seres humanos.

Similarmente, os anticorpos designados primatas (macaco, babuíno, chimpanzé, etc.), roedores (camundongo, rato, coelho, porquinho-da-índia, hamster, e outros) e outros mamíferos designam tais espécies, subgêneros, gêneros, subfamílias, anticorpos específicos familiares. Além disso, os anticorpos quiméricos podem incluir qualquer combinação dos acima. Tais mudanças ou variações opcional e preferivelmente retêm ou reduzem a imunogenicidade em seres humanos ou outras espécies em relação aos anticorpos não-modificados. Assim, um anticorpo humano é distinto de um anticorpo quimérico humanizado.

Observou-se que um anticorpo humano pode ser produzido por uma célula procariótica ou eucariótica animal não humano que é capaz de expressar genes de imunoglobulina humana funcionalmente reorganizados (por exemplo, de cadeia pesada e/ou de cadeia leve). Por outro lado, quando um anticorpo humano for um anticorpo de cadeia única ou domínio único, pode compreender um peptídeo ligador que não é encontrado em anticorpos huma-

nos nativos. Por exemplo, um Fv pode compreender um peptídeo ligador, tal como de dois a cerca de oito resíduos de glicina ou outro aminoácido, que liga a região variável da cadeia pesada e da região variável da cadeia leve. Tais peptídeos ligadores são considerados de ser de origem humana.

Os anticorpos biespecíficos, heteroespecíficos, heteroconjugados ou similares também podem ser usados os quais são monoclonais, preferivelmente, humanos ou humanizados, anticorpos que possuem especificidades de ligação com relação pelo menos dois antígenos diferentes. No presente caso, uma das especificidades de ligação é com relação pelo menos uma subunidade de proteína de IL-23p19, o outro é com relação a qualquer outro antígeno. Métodos para a produção de anticorpos biespecíficos são conhecidos na técnica. Tradicionalmente, a produção recombinante de anticorpos biespecíficos se baseia na co-expressão de dois pares de imunoglobulina de cadeia pesada-cadeia leve, onde as duas cadeias pesadas possuem diferentes especificidades (Milstein and Cuello, Nature 305:537 (1983)). Devido à variedade aleatória de cadeias pesadas e leves de imunoglobulina, estes hibridomas (quadromas) produzem uma mistura potencial de 10 diferentes moléculas de anticorpo, das quais apenas uma possui a estrutura biespecífica correta. A purificação da molécula correta é geralmente feita por etapas de cromatografia por afinidade. Os procedimentos similares são descritos, por exemplo, nas WO 93/08829, Patentes U.S. nºs 6210668, 6193967, 6132992, 6106833, 6060285, 6037453, 6010902, 5989530, 5959084, 5959083, 5932448, 5833985, 5821333, 5807706, 5643759, 5601819, 5582996, 5496549, 4676980, WO 91/00360, WO 92/00373, EP 03089, Traunecker et al., EMBO J. 10:3655 (1991), Suresh et al., Methods in Enzymology 121:210 (1986), cada uma aqui totalmente incorporada por referência.

Os anticorpos anti-IL-23p19 úteis nos métodos e composições da presente invenção podem opcionalmente ser caracterizados pela ligação por afinidade elevada à IL-23p19 e, opcionalmente e preferivelmente, como tendo baixa toxicidade. Em particular, um anticorpo, fragmento específico ou variante da invenção, onde os componentes individuais, tais como a região variável, região constante e estrutura, individual e/ou coletivamente, opcional

e preferivelmente possuem baixa imunogenicidade, é útil na presente invenção. Os anticorpos que podem ser utilizados na invenção são opcionalmente caracterizados por sua capacidade de tratar pacientes durante longos períodos com alívio mensurável dos sintomas e toxicidade baixa e/ou aceitável. A imunogenicidade baixo ou aceitável e/ou afinidade elevada, assim como outras propriedades adequadas, podem contribuir com os resultados terapêuticos alcançados. "Imunogenicidade baixa" é aqui definida como a incidência de níveis tituláveis de anticorpos com o anticorpo anti-IL-23p19 em pacientes tratados com anticorpo anti-IL-23p19 quando ocorre em menos de 25% dos pacientes tratados, preferivelmente, em menos de 10% dos pacientes tratados com a dose recomendada para o curso recomendada de terapia durante o período de tratamento.

Os ácidos nucléicos isolados da presente invenção podem ser usados para a produção de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 ou variante específica, que pode ser utilizada para medir o efeito em uma célula, tecido, órgão ou animal (incluindo mamíferos e seres humanos), para diagnosticar, monitorar, modular, tratar, aliviar, ajudar a prevenir a incidência, ou reduzir os sintomas, de pelo menos uma condição relacionada com a IL-23, selecionada, mas não limitado a elas, de pelo menos um distúrbio ou doença imune, um distúrbio ou doença cardiovascular, um distúrbio ou doença infecciosa, maligna, e/ou neurológica, ou outra condição relacionada com a IL-23 conhecida ou especificada.

Um tal método pode compreender a administração de uma quantidade eficaz de uma composição ou de uma composição farmacêutica compreendendpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente com necessidade de tal modulação, tratamento, alívio, prevenção, ou redução nos sintomas, efeitos ou mecanismos. A quantidade efeicaz pode compreender uma quantidade de cerca de 0,001 a 500 mg/kg per administração única (por exemplo, bolo), múltipla ou contínua, ou para alcançar concentração no soro de 0,01 a 5000 μg/ml per administração única, múltipla ou contínua, ou qualquer faixa ou valor nesse particular, como é feito e determinado usando métodos conhecidos, como aqui descrito

ou conhecido nas técnicas relevantes.

Anticorpos da Presente Invenção - Produção e Geração

Pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 da presente invenção pode ser opcionalmente produzido por uma linhagem celular, uma linhagem celular misturada, uma célula imortalizada ou população clonal de células imortalizadas, assi como na técnica. Vide, por exemplo, Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987-2001); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2001); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2001).

Os anticorpos que são específicos para as proteínas de IL-23p19 humanas ou fragmentos destas podem ser obtidos a partir de bibliotecas de anticorpo humano recombinante utilizando um antígeno apropriado, tal como uma proteína de IL-23p19 isolada e/ou uma parte desta (incluindo as moléculas sintéticas, tais como peptídeos sintéticos). Outros anticorpos específicos ou gerais, incluindo, sem limitação, anticorpos de mamífero, podem ser similarmente promovidos. A preparação de antígenos, e isolamento de anticorpos das bibliotecas humanos, pode ser executada utilizando qualquer técnica adequada.

Em uma abordagem, um anticorpo recombinante é obtido pela exposição fago utilizando bibliotecas de anticorpo (Hoogenboom HR. Overview of antibody phage-display technology and its applications. *Methods in Molecular Biology. 178:1-37, 2002*). Em uma abordagem preferida, um Fab humano recombinante é isolado da HuCal Gold® Library developed by MorphoSys, AG (Kretzschmar, 2002) e posteriormente melhorado em sua atividade pela diversificação de cassete de CDR (Knappik et al., 2000; Krebs et al., 2001).

Os anticorpos humanos recombinantes recuperados a partir das bibliotecas de exibição fago podem ser planejados para substituir certos re-

síduos com aminoácidos específicos que correspondem com as seqüências de anticorpo humanas de consenso ou específicas. Estas seqüências são identificadas por comparações com as bases de dados de anticorpos da linha germinativa ou reorganizados conhecidos.

As seqüências de Ig humanas conhecidas são descritas, por exemplo, www. ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi; www. ncbi.nih.gov/igblast; www. atcc.org/phage/hdb.html; www. mrc-cpe.cam.ac.uk/ALIGNMENTS.php; www. kabatdatabase.com/top.html; ftp. ncbi.nih.gov/repository/kabat; www. imgt.cines.fr.8104/; www. biochem.unizh.ch/antibody/index.html; www. sci-quest.com; www. abcam.com; www. antibodyresource.com/onlinecomp.html; www. public.iastate.edu/~pedro/research_tools.html; www. whfreeman.com/immunology/CH05/kuby05.htm; www. hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab; www. path.cam.ac.uk/~mrc7/mikeimages.html; mcb.harvard.edu/BioLinks/Immunology.html; www. immunologylink.com; pathbox. wustl.edu/~hcenter/index.html; www. appliedbiosystems.com; www. nal.usda.gov/awic/pubs/antibody; www. m.ehime-u.ac.jp/~yasuhito/Elisa.html; www. biodesign.com; www. cancerresearchuk.org; www. biotech.ufl.edu; www. isac-net.org; baserv. uci.kun.nl/~jraats/links1.html; www. recab.unihd.de/immuno.bme.nwu.edu; www. mrc-cpe.cam.ac.uk; www. ibt.unam.mx/vir/V_mice.html; http://www. bioinf.org.uk/abs; antibody.bath.ac.uk; www. unizh.ch; www. cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s; www. nimr.mrc.ac.uk/CC/ccaewg/ccaewg.html; www. path.cam.ac.uk/~mrc7/humanisation/TAHHP.html; www. ibt.unam.mx/vir/structure/stat_aim.html; www. biosci.missouri.edu/smithgp/index.html; www. jerini.de; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health (1983), cada uma aqui inteiramente incorporada por referência.

Tais aminoácidos substituídos podem ser usados para reduzir a imunogenicidade ou reduzir, intensificar ou modificar a ligação, afinidade, índice de associação, índice de desassociação, avidez, especificidade, meia-vida, ou qualquer outra característica adequada, como conhecido na técnica. Em geral, os resíduos de CDR estão diretamente e mais substancialmente

envolvidos na influência da ligação ao antígeno.

Opcionalmente, os anticorpos humanos podem serplanejados com retenção de alta afinidade para o antigénio e outras propriedades biológicas favoráveis. Para atingir este objetivo, os anticorpos humanos podem ser opcionalmente preparados por um processo de análise das seqüências parentais e vários produtos planejados conceituais utilizando modelos tridimensionais das seqüências parentais, planejadas e humanas. Os modelos de imunoglobulina tridimensionais são comumente disponíveis e são familiares para aqueles versados na técnica. Os programas de computador são disponíveis os quais ilustram e apresentam estruturas conformacionais tridimensionais prováveis de seqüências de imunoglobulina candidatas selecionadas. A inspeção destas exposições permite a análise da provável função dos resíduos no funcionamento da seqüência de imunoglobulina candidato, ou seja, a análise dos resíduos que influenciam a capacidade da imunoglobulina candidato em se ligar ao seu antígeno. Desta forma, os resíduos podem ser selecionados e combinados das seqüências humanas de origem e de referência de modo que a característica de anticorpo desejada, tal como a afinidade para o(s) antígeno(s) alvo, seja alcançada. Alternativamente, ou além dos procedimentos acima, o planejamento pode ser executado empiricamente pela diversificação do cassete de CDR e pela seleção da atividade desejada, tal como descrito com relação ao sistema MorphoSys HuCAL (Knappik et al., 2000; Krebs et al., 2001).

Além disso, o anticorpo de IL-23p19 da presente invenção pode compreender uma estrutura de cadeia leve da linha germinativa humana. Nas modalidades particulares, a seqüência da linha germinativa de cadeia leve é selecionada a partir das seqüências VK humanas incluindo, mas não limitado a elas, A1, A10, A11, A14, A17, A18, A19, A2, A20, A23, A26, A27, A3, A30, A5, A7, B2, B3, L1, L10, L11, L12, L14, L15, L16, L18, L19, L2, L20, L22, L23, L24, L25, L4/18a, L5, L6, L8, L9, O1, O11, O12, O14, O18, O2, O4 e O8. Em certas modalidades, esta estrutura da linha germinativa humana de cadeia leve é selecionada de V1-11, V1-13, V1-16, V1-17, V1-18, V1-19, V1-2, V1-20, V1-22, V1-3, V1-4, V1-5, V1-7, V1-9, V2-1, V2-11, V2-13, V2-14, V2-15, V2-17, V2-19,

V2-6, V2-7, V2-8, V3-2, V3-3, V3-4, V4-1, V4-2, V4-3, V4-4, V4-6, V5-1, V5-2, V5-4 e V5-6. Vide PCT WO 2005/005604 para uma descrição das diferentes seqüências da linha germinativa.

Em outras modalidades, o anticorpo de IL-23 da presente invenção pode compreender uma estrutura de cadeia pesada da linha germinativa humana. Nas modalidades particulares, esta estrutura de cadeia pesada da linha germinativa humana é selecionada de VH1-18, VH1-2, VH1-24, VH1-3, VH1-45, VH1-46, VH1-58, VH1-69, VH1-8, VH2-26, VH2-5, VH2-70, VH3-11, VH3-13, VH3-15, VH3-16, VH3-20, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-33, VH3-35, VH3-38, VH3-43, VH3-48, VH3-49, VH3-53, VH3-64, VH3-66, VH3-7, VH3-72, VH3-73, VH3-74, VH3-9, VH4-28, VH4-31, VH4-34, VH4-39, VH4-4, VH4-59, VH4-61, VH5-51, VH6-1 e VH7-81. Vide a PCT WO 2005/005604 para uma descrição das diferentes seqüências da linha germinativa.

Nas modalidades particulares, a região variável de cadeia leve e/ou a região variável de cadeia pesada compreende uma região estrutural ou pelo menos uma parte de uma região estrutural (por exemplo, contendo 2 ou 3 sub-regiões, tais como FR2 e FR3). Em certas modalidades, pelo menos FRL1, FRL2, FRL3 ou FRL4 é plenamente humana. Em outras modalidades, pelo menos FRH1, FRH2, FRH3 ou FRH4 é plenamente humana. Em algumas modalidades, pelo menos FRL1, FRL2, FRL3 ou FRL4 é uma seqüência da linha germinativa (por exemplo, linha germinativa humana) ou compreende seqüências de consenso humanas para a estrutura particular (prontamente disponíveis nas fontes de seqüências de Ig humanas conhecidas descritas acima). Em outras modalidades, pelo menos FRH1, FRH2, FRH3 ou FRH4 é uma seqüência da linha germinativa (por exemplo, linha germinativa humana) ou compreende seqüências de consenso humanas para a estrutura particular. Nas modalidades preferidas, a região estrutural é uma região estrutural humana.

O planejamento de anticorpos da presente invenção pode ser executado utilizando qualquer método conhecido, tal como, mas não limitado a aqueles descritos em, Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)), Sims et

al., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993), Patentes U.S. nºs: 5723323, 5976862, 5824514, 5817483, 5814476, 5763192, 5723323, 5766886, 5714352, 6204023, 6180370, 5693762, 5530101, 5585089, 5225539; 4816567, PCT/: US 98/16280, US 96/18978, US 91/09630, US 91/05939, US 94/01234, GB 89/01334, GB 91/01134, GB 92/01755; WO 90/14443, WO 90/14424, WO 90/14430, EP 229246, cada um aqui totalmente incorporado por referência, incluídas as referências citadas nesse particular.

Em certas modalidades, o anticorpo compreende uma região Fc alterada (por exemplo, modificada). Por exemplo, em algumas modalidades, a região Fc foi alterada para reduzir ou aumentar as funções efetoras do anticorpo. Em algumas modalidades, a região Fc é um isotipo selecionado de IgM, IgA, IgG, IgE, ou outro isotipo.

Alternativa ou adicionalmente, pode ser útil combinar as modificações de aminoácido com uma ou mais outras modificações de aminoácido que alterem a ligação de C1q e/ou a função de citotoxicidade dependente complementar (CDC) da região Fc de uma molécula de ligação de IL-23p19. O polipeptídeo de ligação de interesse particular pode ser aquele que se liga ao C1q e apresenta citotoxicidade dependente complementar. Os polipeptídeos com atividade de ligação de C1q preexistente, opcionalmente ainda tendo a capacidade de mediar a CDC, podem ser modificados tais que uma ou ambas destas atividades sejam reforçadas. As modificações de aminoácido que alteram o C1q e/ou modificam a sua função de citotoxicidade dependente complementar são descritas, por exemplo, na WO/0042072, que é por meio desta incorporada por referência.

Conforme descrito acima, pode-se projetar uma região Fc dos anticorpos de IL-23p19 da presente invenção com função efetora alterada, por exemplo, mediante a modificação da ligação de C1q e/ou ligação de FcγR e assim modificar a atividade de CDC e/ou atividade de ADCC. As "funções efetoras" são responsáveis pela ativação ou diminuição de uma atividade biológica (por exemplo, em um indivíduo). Exemplos de funções

efetoras incluem, mas não estão limitados a estes: ligação de C1q; citotoxicidade dependente complementar (CDC); ligação ao receptor de Fc; citotoxicidade mediada pela célula dependente do anticorpo (ADCC); fagocitose; infra-regulação dos receptores da superfície celular (por exemplo, receptor da célula B; BCR), etc. Tais funções efetoras podem requerer a região Fc para ser combinada com um domínio de ligação (por exemplo, um domínio variável de anticorpos) e podem ser avaliadas utilizando vários ensaios (por exemplo, ensaios de ligação ao Fc, ensaios ADCC, ensaios CDC, etc).

Por exemplo, pode-se gerar uma região Fc variante do anticorpo de IL-23p19 com uma ligação de C1q melhorada e ligação de FcγRIII melhorada (por exemplo, tendo tanto atividade ADCC melhorada quanto atividade CDC melhorada). Alternativamente, se for desejável que a função efetora seja reduzida ou removida, uma região Fc variante pode ser planejada com a atividade CDC reduzida e/ou atividade ADCC reduzida. Em outras modalidades, apenas uma destas atividades pode ser aumentada, e, opcionalmente, da mesma forma a outra atividade reduzida (por exemplo, para gerar uma região Fc variante com atividade ADCC melhorada, mas com atividade CDC reduzida e vice-versa).

As mutações de Fc também podem ser introduzidas e planejadas para alterar a sua interação com o receptor de Fc neonatal (FcRn) e melhorar as suas propriedades farmacocinéticas. Uma coleção de variantes de Fc humanas com ligação melhorada com o FcRn foi descrita (Shields et al., (2001). O mapeamento de alta resolução do sítio de ligação em IgG1 humana para FcγRI, FcγRII, FcγRIII e FcRn e concepção de variantes de IgG1 com ligação melhorada ao FcγR, (J. Biol. Chem. 276:6591-6604).

Um outro tipo de substituição de aminoácido serve para alterar o padrão de glicosilação da região Fc do anticorpo de IL-23p19. A glicosilação de uma região Fc é tipicamente N-ligada ou O-ligada. N-ligada refere-se à conexão do componente de carboidrato com a cadeia lateral de um resíduo de asparagina. A glicosilação O-ligada refere-se à conexão de um dos açúcares N-aceilgalactosamina, galactose ou xilose a um ácido de hidroxiamino, mais comumente serina ou treonina, embora a 5-hidroxiprolina ou A 5-

hidroxilisina também possa ser usada. As seqüências de reconhecimento para a conexão enzimática do componente de carboidrato com as seqüência de peptídeo da cadeia lateral de asparagina são asparagina-X-serina e asparagina-X-treonina, onde X é qualquer aminoácido exceto prolina. Assim, a presença de cada uma destas seqüências de peptídeo em um polipeptídeo cria um sítio de glicosilação potencial.

O padrão de glicosilação pode ser alterado, por exemplo, pela anulação de um ou mais sítios de glicosilação observados no polipeptídeo, e/ou adição de um ou mais sítio de glicosilação que não estão presentes no polipeptídeo. A adição de sítios de glicosilação na região Fc de um anticorpo de IL-23p19 é convenientemente executada pela alteração da seqüência de aminoácido de modo que contenha uma ou mais das seqüências de tripeptídeo acima descrita (com relação aos sítios de glicosilação N-ligados). Uma variante de glicosilação exemplar possui uma substituição de aminoácido resíduo Asn 297 da cadeia pesada. A alteração pode também ser feita por meio da adição, ou substituição, de um ou mais resíduos de serina ou treonina com a seqüência do polipeptídeo original (com relação aos sítios de glicosilação O-ligados). Adicionalmente, uma mudança de Asn 297 para Ala pode remover um dos sítios de glicosilação.

Em certas modalidades, o anticorpo de IL-23p19 da presente invenção é expresso em células que expressam beta (1,4)-N-acetilglicosaminiltransferase III (GnT III), de tal forma que a GnT III acrescenta GlcNAc ao anticorpo de IL-23p19. Métodos para a produção de anticorpos em uma tal forma são fornecidos nas WO/9954342, WO/03011878, publicação de patente 20030003097A1, e Umana et al., Nature Biotechnology, 17:176-180, Feb. 1999.

Os anticorpos de triagem para a ligação específica nas proteínas similares ou fragmentos podem ser convenientemente obtidos usando bibliotecas de exibição de peptídeo. Este método envolve a triagem de grandes coleções de peptídeos para os membros individuais tendo a função ou estrutura desejada. A triagem de anticorpos das bibliotecas de exibição de peptídeo é bem-conhecida na técnica. As seqüências de peptídeo apresentadas

podem ser de 3 a 5000 ou mais aminoácidos de comprimento, freqüentemente de 5 a 100 aminoácidos de extensão, e freqüentemente de cerca de 8 a 25 aminoácidos de comprimento. Além de direcionar os métodos sintéticos químicos para a geração de bibliotecas de peptídeo, vários métodos de DNA recombinante foram descritos. Um tipo envolve a exibição de uma seqüência de peptídeo na superfície de um bacteriófago ou célula. Cada bacteriófago ou célula contém a seqüência nucleotídeo que codifica a seqüência de peptídeo apresentada particular. Tais métodos são descritos nas Publicações de Patente PCT nos. 91/17271, 91/18980, 91/19818 e 93/08278.

Outros sistemas para gerar bibliotecas de peptídeos possuem aspectos tanto da síntese química in vitro quanto métodos recombinantes. Vide, as Publicações de Patente PCT Nos. 92/05258, 92/14843 e 96/19256. Vide também, as Patentes U.S. nºs 5.658.754 e 5.643.768. As bibliotecas de exibição de peptídeo, vetores, e kits de triagem são comercialmente disponíveis de tais fornecedores como Invitrogen (Carlsbad, CA), e Cambridge Antibody Technologies (Cambridgeshire, UK). Vide, por exemplo, as Patentes U.S. nºs 4704692, 4939666, 4946778, 5260203, 5455030, 5518889, 5534621, 5656730, 5763733, 5767260, 5856456, atribuídas para Enzon; 5223409, 5403484, 5571698, 5837500, atribuídas para Dyax, 5427908, 5580717, atribuídas para Affymax; 5885793, atribuída para Cambridge Antibody Technologies; 5750373, atribuída para Genentech, 5618920, 5595898, 5576195, 5698435, 5693493, 5698417, atribuídas para Xoma, Colligan, supra; Ausubel, supra, ou Sambrook, supra.

Os anticorpos da presente invenção também podem ser preparados usandpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 que codifica ácido nucléico para fornecer animais ou mamíferos transgênicos, tais como cabras, vacas, cavalos, ovelhas, coelhos e outro mais, que produzem tais anticorpos em seu leite. Tais animais podem ser fornecidos usando métodos conhecidos. Vide, por exemplo, mas não limitado elas, Patentes U.S. nºs 5.827.690, 5.849.992, 4.873.316, 5.849.992, 5.994.616, 5.565.362, 5.304.489, e outros mais, cada uma das quais é totalmente incorporada neste documento por referência.

Os anticorpos da presente invenção podem ser adicionalmente

preparados utilizandpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 que codifica o ácido nucléico para fornecer plantas transgênicas e células de planta cultivadas (por exemplo, mas não limitado a eles, tabaco e milho) que produzem tais anticorpos, partes específicas ou variantes nas partes da planta ou nas células cultivadas destas. Como um exemplo não limitativo, as folhas de tabaco transgênico que expressam proteínas recombinantes foram utilizadas com êxito para fornecer grandes quantidades de proteínas recombinantes, por exemplo, usando um promotor indutível. Vide, por exemplo, Cramer et al., Curr. Top. Microbol. Immunol. 240:95-118 (1999) e as referências aí citadas. Da mesma forma, o milho transgênico foi usado para expressar proteínas de mamífero em níveis de produção comercial, com atividades biológicas equivalentes a aqueles produzidos em outros sistemas recombinantes ou purificados a partir de fontes naturais. Vide, por exemplo, Hood et al., Adv. Exp. Med. Biol. 464:127-147 (1999) e as referências nele citadas. Os anticorpos também foram produzidos em grandes quantidades a partir de sementes de plantas transgênicas incluindo fragmentos de anticorpo, tais como anticorpos de cadeia única (scFv's), incluindo as sementes de tabaco e tubérculos de batata. Vide, por exemplo, Conrad et al., Plant Mol. Biol. 38:101-109 (1998) e as referências aí citadas. Assim, os anticorpos da presente invenção também podem ser produzidos utilizando plantas transgênicas, de acordo com métodos conhecidos. Vide também, por exemplo, Fischer et al., Biotechnol. Appl. Biochem. 30:99-108 (Oct., 1999), Ma et al., Trends Biotechnol. 13:522-7 (1995); Ma et al., Plant Physiol. 109:341-6 (1995); Whitelam et al., Biochem. Soc. Trans. 22:940-944 (1994); e referências citadas nestes documentos.

Os anticorpos da invenção podem se ligar à IL-23p19 humana com uma ampla faixa de afinidades ($K_D$). Em uma modalidade preferida, pelo menos um mAb da presente invenção pode opcionalmente se ligar à IL-23p19 humana com alta afinidade. Por exemplo, um mAb humano ou outro pode se ligar à IL-23p19 humana com uma $K_D$ igual ou menor do que cerca de $10^{-7}$ M, tal como, mas não limitado a estes, de 0,1 a 9,9 (ou qualquer faixa ou valor nesse particular) X $10^{-7}$, $10^{-8}$, $10^{-9}$, $10^{-10}$, $10^{-11}$, $10^{-12}$, $10^{-13}$, $10^{-14}$, $10^{-15}$ ou qualquer faixa ou

valor nesse particular, tal como determinado pela ressonância de plásmon superficial ou o método Kinexa, como praticado por aqueles versados na técnica. Em uma modalidade, os anticorpos da invenção se ligam à IL-23p19 humana com uma $K_D$ entre cerca de 4 e cerca de 4400 pM.

A afinidade ou avidez de um anticorpo para um antígeno pode ser determinada experimentalmente usando qualquer método adequado. (Vide, por exemplo, Berzofsky, et al., "Antibody-Antigen Interactions," In Fundamental Immunology, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, NY (1984); Kuby, Janis Immunology, W. H. Freeman and Company: New York, NY (1992); e métodos aqui descritos). A afinidade medida de uma interação anticorpo-antígeno particular pode variar se medido sob condições diferentes (por exemplo, concentração de sal, pH). Assim, as medições de afinidade e outros parâmetros de ligação ao antígeno (por exemplo, $K_D$, $K_{on}$, $K_{off}$) são preferivelmente feitas com soluções padronizadas de anticorpo e antígeno, e um tampão padronizado, tal como o tampão aqui descrito.

Os ensaios competitivos podem ser executados com o anticorpo da presente invenção de modo a determinar quais proteínas, anticorpos, e outros antagonistas concorrem para ligação à IL-23p19 com o anticorpo da presente invenção e/ou compartilham a região de epítopo. Estes ensaios tão facilmente conhecidos para aqueles de habilidade usual na técnica avaliam a concorrência entre os antagonistas ou ligandos para um número limitado de sítios de ligação em uma proteína, por exemplo, p19. A proteína e/ou anticorpo é imobilizado ou insolubilizado antes ou após a competição e a amostra ligada à subunidade p19 é separada da amostra não ligada, por exemplo, por decantação (onde a proteína/anticorpo foi pré-insolubilizada) ou por centrifugação (onde a proteína/anticorpo foi precipitada após a reação competitiva). Da mesma forma, a ligação competitiva pode ser determinada por saber se a função é alterada pela ligação ou pela falta de ligação do anticorpo com a proteína, por exemplo, quer a molécula de anticorpo iniba quer potencie a atividade enzimática, por exemplo, de um rótulo. O ELISA e outros ensaios funcionais podem ser utilizados, como bem-conhecidos na técnica.

Certas modalidades dos anticorpos anti-IL-23p19 da invenção

possuem as seqüências mostradas nas Tabelas de Seqüência abaixo. Por exemplo, um anticorpo anti-IL-23p19 da invenção possui uma das seqüências de CDR1 de cadeia leve das SEQ ID NOS: 46-51; uma das seqüências de CDR2 de cadeia leve das SEQ ID NOS: 52-57; uma das seqüências de CDR3 de cadeia leve das SEQ ID NOS: 58-79; uma das seqüências de CDR1 de cadeia pesada das SEQ ID NOS: 1-6; uma das seqüências de CDR2 de cadeia pesada das SEQ ID NOS: 7-39 e 146; e/ou um das seqüências de CDR3 de pesada cadeia das SEQ ID NOS: 40-45.

Moléculas de Ácido Nucléico

Usando a informação aqui fornecida, por exemplo, as seqüências de nucleótido que codificam pelo menos de 70 a 100% dos aminoácidos contíguos de pelo menos uma das regiões variáveis de cadeia leve dos anticorpos da invenção (por exemplo, SEQ ID NOS: 136-138 e 142-144) e, pelo menos, uma das regiões variáveis de cadeia pesada dos anticorpos da invenção (por exemplo, SEQ ID NOS: 133-135 e 139-141), fragmentos específicos, variantes ou seqüências de consenso destes, ou um vetor depositado compreendendpelo menos uma destas seqüências, uma molécula de ácido nucléico da presente invenção que codificpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 pode ser obtida usando os métodos aqui descritos ou como conhecidos na técnica.

As moléculas de ácido nucléico da presente invenção podem estar na forma de RNA, tal como mRNA, hnRNA, tRNA ou qualquer outra forma, ou na forma de DNA, incluindo, mas não limitado a estes, cDNA e DNA genômico obtidos por clonagem ou produzidos sinteticamente, ou quaisquer combinações destes. O DNA pode ser de filamento triplo, de filamento duplo ou de filamento únnico, ou qualquer combinação destes. Qualquer parte de pelo menos um filamento do DNA ou RNA pode ser o filamento de codificação, também conhecido como o filamento sentido, ou pode ser o filamento de não condificação, também referido como o filamento anti-sentido.

As moléculas de ácido nucléico isoladas da presente invenção podem incluir moléculas de ácidos nucléico compreendendo uma estrutura de leitura aberta (ORF), opcionalmente, com uma ou mais introns, por e-

xemplo, mas não limitado a estes, pelo menos uma parte específica de pelo menos um CDR, tal como CDR1, CDR2 e/ou CDR3 de pelo menos cadeia leve (SEQ ID NOS: 46-51, 52-57, ou 58-79) ou pelo menos uma cadeia pesada (SEQ ID NOS: 1-6, 7-39, ou 40-45); moléculas de ácido nucléico compreendendo a seqüência de codificação para um anticorpo anti-IL-23p19 ou região variável (por exemplo, regiões variáveis de cadeia leve SEQ ID NOS: 82-85, 93-98, 100, 102, 113-116 e 128-132 e regiões variáveis de cadeia pesada da SEQ ID NOS: 80, 81, 86-92, 99, 101, 103-112, 117-127 e 147); e moléculas de ácido nucléico que compreendem uma seqüência de nucleotídeo substancialmente diferente daquelas descritas acima, mas que, devido à decadência do código genético, ainda codificam pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 como aqui descrito e/ou como conhecido na técnica. Evidentemente, o código genético é bem-conhecido na técnica. Assim, deve ser rotineiro para uma pessoa versada na técnica gerar tais variantes de ácido nucléico degeneradas que codificam os anticorpos anti-IL-23p19 específicos da presente invenção. Vide, por exemplo, Ausubel, et al., *supra*, e tais variantes de ácido nucléico são incluídas na presente invenção.

Como aqui indicado, as moléculas de ácido nucléico da presente invenção que compreendem um ácido nucléico que codifica um anticorpo anti-IL-23p19 podem incluir, mas não são limitados a estes, aquelas que codificam a seqüência de aminoácido de um fragmento de anticorpo, por si mesmo; a seqüência de codificação para o anticorpo inteiro ou uma parte deste; a seqüência de codificação para um anticorpo, fragmento ou parte, assim como as seqüências adicionais, tais como a seqüência de codificação de pelo menos um condutor de sinal ou peptídeo de fusão, com ou sem as seqüências de codificação adicionais anteriormente mecnionadas, tais compelo menos um intron, juntamente com as seqüências de não codificação adicionais, incluindo, mas não limitado a estas, seqüências 5 'e 3' de não codificação, tais como as seqüências não traduzidas transcritas que desempenham um papel na transcrição, processamento de mRNA, incluindo os sinais de recomposição e poliadenilação (por exemplo, ligação de ribossoma e estabilidade de mRNA); uma seqüência de codificação adicional que codi-

fica os aminoácidos adicionais, tais como os aqueles que fornecem funcionalidades adicionais. Assim, a seqüência que codifica um anticorpo pode ser fundida com uma seqüência marcadora, tal como uma seqüência que codifica um peptídeo que facilita a purificação do anticorpo fundido compreendendo um fragmento ou parte do anticorpo.

Hibridização Seletiva de Polinucleótideos em um Polinucleotídeo como aqui Descrito

A presente invenção fornece ácidos nucléicos isolados que hibridizam sob condições seletivas de hibridização em um polinucleotídeo aqui descrito. Assim, os polinucleotídeos desta modalidade podem ser usados para o isolamento, detecção e/ou quantificação de ácidos nucléicos compreendendo tais polinucleotídeos. Por exemplo, os polinucleotídeos da presente invenção podem ser usados para identificar, isolar ou amplificar os clones de comprimento parcial ou total em uma biblioteca depositada. Em alguns modalidades, os polinucleotídeos são seqüências genômicas ou de cDNA isoladas, ou de outra forma complementares com um cDNA de uma biblioteca de ácido nucléico humana ou de mamífero.

Preferivelmente, a biblioteca de cDNA compreende pelo menos 80% de seqüências de comprimento total, preferivelmente, pelo menos 85% ou 90% de seqüências de comprimento total, e, mais preferivelmente, pelo menos 95% de seqüências de comprimento total. As bibliotecas de cDNA podem ser normalizadas para aumentar a representação de seqüências raras. Condições de hibridização com severidade baixa ou moderada são tipicamente, mas não exclusivamente, empregadas com seqüências tendo uma identidade de seqüência reduzida em relação às seqüências complementares. As condições de severidade moderada e elevada podem opcionalmente ser empregadas para seqüências de maior identidade. As condições de severidade baixa permitem hibridização seletiva das seqüências tendo cerca de 70% de identidade de seqüência e podem ser empregadas para identificar as seqüências ortólogas e parálogas.

Opcionalmente, os polinucleotídeos desta invenção codificarãpelo menos uma parte de um anticorpo codificado pelos polinucleotídeos aqui

descritos. Os polinucleotídeos desta invenção abrangem as seqüências de ácido nucléico que podem ser empregadas para a hibridização seletiva em um polinucleotídeo que codifica um anticorpo da presente invenção. Vide, por exemplo, Ausubel, supra; Colligan, supra, cada um aqui inteiramente incorporado por referência.

Construção de Ácidos Nucléicos

Os ácidos nucléicos isolados da presente invenção pode ser preparados utilizando

(a) métodos recombinantes, (b) técnicas sintéticas, (c) técnicas de purificação, e/ou (d) combinações destes, como bem-conhecidas na técnica.

Os ácidos nucléicos podem convenientemente compreender seqüências além de um polinucleotídeo da presente invenção. Por exemplo, um sítio de múltiplas clonagens compreendendo um ou mais sítios de restrição da endonuclease pode ser inserido no ácido nucléico para ajudar no isolamento do polinucleotídeo. Da mesma forma, as seqüências traduzíveis podem ser inseridas para ajudar no isolamento do polinucleotídeo trasladado da presente invenção. Por exemplo, uma seqüência marcadora de hexahistidina proporciona um meio conveniente para purificar as proteínas da presente invenção. O ácido nucléico da presente invenção, excluindo a seqüência de codificação, é opcionalmente um vetor, adaptador ou articulador para clonagem e/ou expressão de um polinucleotídeo da presente invenção.

As seqüências adicionais podem ser adicionadas a tais seqüências de clonagem e/ou expressão para otimizar sua função na clonagem e/ou expressão, para auxiliar no isolamento do polinucleotídeo, ou para melhorar a introdução do polinucleotídeo em uma célula. O uso vetores de clonagem, vetores de expressão, adaptadores, articuladores é bem-conhecido na técnica. (Vide, por exemplo, Ausubel, *supra*, ou Sambrook, *supra*)

Métodos Recombinante para a Construção de Ácidos Nucléicos

As composições de ácido nucléico isoladas desta invenção, tais como RNA, cDNA, DNA genômico, ou qualquer combinação destes, podem ser obtidas a partir de fontes biológicas utilizando qualquer número de metodologias de clonagem conhecidas por aqueles versados na técnica. Em al-

gumas modalidades, as sondas de oligonucleótideo que seletivamente hibridizam, sob condições severas, nos polinucleotídeos da presente invenção são usadas para identificar a seqüência desejada em uma biblioteca de cDNA ou DNA genômico. O isolamento de RNA, e a construção de bibliotecas de cDNA e genômicas, são bem-conhecidos daqueles de habilidade usual na técnica. (Vide, por exemplo, Ausubel, supra, ou Sambrook, supra)

Triagem de Ácido Nucléico e Métodos de Isolamento

Uma biblioteca de cDNA ou genômica pode submetida a triagem usando uma sonda baseada na seqüência de uma polinucleotídeo da presente invenção, tal como aquela aqui descrita. As sondas podem ser usadas para hibridizar com as seqüências de DNA genômico ou cDNA para isolar os genes homólogos nos mesmos ou diferentes organismos. Aqueles versados na técnica observarão vários graus de severidade de hibridação podem ser empregados no ensaio; e a hibridização ou o meio de lavagem pode ser severo. Quando as condições de hibridização se tornam mais rigorosas, deve haver um maior grau de complementaridade entre a sonda e o alvo para a formação dúplex ocorrer. O grau de severidade pode ser controlado por um ou mais de temperatura, força iônica, pH e a presença de um solvente parcialmente desnaturado, como formamida. Por exemplo, a severidade de hibridação é convenientemente variada pela mudança da polaridade da solução de reagente através da, por exemplo, manipulação da concentração de formamida dentro da faixa de 0% a 50%. O grau de complementaridade (identidade de seqüência), necessário para a ligação detectável variará de acordo com a severidade do meio de hibridação e/ou meio de lavagem. O grau de complementaridade idealmente será 100%, ou de 70 a 100%, ou qualquer faixa ou o valor nesse particular. No entanto, deve ficar entendido que pequenas variações de seqüência nas sondas e iniciadores podem ser compensadas pela redução da severidade do meio de hibridação e/ou lavagem.

Métodos de amplificação de DNA ou RNA são bem-conhecidos na técnica e podem ser utilizados de acordo com a presente invenção sem experimentação indevida, com base no ensino e orientação apresentados neste documento.

Métodos conhecidos de amplificação de DNA ou RNA incluem, mas não se limitando a estes, reação de cadeia polimerase (PCR) e processos de amplificação relacionados (vide, por exemplo, as Patentes U.S. nºs 4.683.195, 4.683.202, 4.800.159, 4.9651.88, de Mullis, et al.; 4.795.699 4.921.794 de Tabor, et al; 5.142.033 de Innis; 5.122.464 de Wilson, et al.; 5.091.310 de Innis; 5.066.584 de Gyllensten, et al; 4.889.818 de Gelfand, et al; 4.994.370 de Silver, et al; 4.766.067 de Biswas, 4.656.134 de Ringold) e amplificação mediada por RNA que usa RNA anti-sentido para a seqüência alvo como um modelo para a síntese de DNA de filamento duplo (Patente U.S. nº 5.130.238 de Malek, et al, com o nome comercial NASBA), os conteúdos inteiros destas referências são aqui incorporados por referência. (Veja, por exemplo, Ausubel, supra, ou Sambrook, supra).

Por exemplo, a tecnologia de reação de cadeia polimerase (PCR) pode ser utilizada para ampliar as seqüências de polinucleotídeos da presente invenção e os genes relacionados diretamente das bibliotecas de DNA genômico ou cDNA. A PCR e outros métodos de amplificação in vitro também podem ser úteis, por exemplo, para clonar as seqüências de ácido nucléico que codificam as proteínas para serem expressas, para preparar os ácidos nucléicos de serem usados como sondas para a detecção da presença do mRNA desejado nas amostras, para o seqüenciamento de ácido nucléico, ou para outros propósitos. Exemplos de técnicas suficientes para direcionar as pessoas habilidade através dos métodos de amplificação in vitro são encontradas em Berger, supra, Sambrook, supra, e Ausubel, supra, assim como Mullis, et al., Patente U.S. nº 4.683.202 (1987); e Innis, et al., PCR Protocols A Guide ofe Methods and Applications, Eds., Academic Press Inc., San Diego, CA (1990). Os kits comercialmente disponíveis para a amplificação da PCR genômica são conhecidos na técnica. Vide, por exemplo, Advantage-CG Genomic PCR Kit (Clontech). Adicionalmente, por exemplo, o gene T4 de 32 proteínas (Boehringer Mannheim) pode ser usado para melhorar o rendimento dos produtos de PCR durante muito tempo.

Métodos Sintéticos para a Construção de Ácidos Nucléicos

Os ácidos nucléicos isolados da presente invenção também po-

dem ser preparados pela síntese química direta por métodos conhecidos (vide, por exemplo, Ausubel, et al., Supra). A Síntese química geralmente produz um oligonucleótideo de filamento único, que pode ser convertido em DNA de filamento duplo mediante a hibridização com uma seqüência complementar, ou pela polimerização com uma DNA polimerase usando o filamento único como um modelo. Uma pessoa de habilidade na técnica irá reconhecer que, embora a síntese química de DNA pode ser limitada às seqüências de cerca de 100 ou mais bases, seqüências mais longas podem ser obtidas pela ligação das seqüências mais curtas.

Cassetes de Expressão Recombinantes

A presente invenção ainda fornece cassetes de expressão recombinantes que compreendem um ácido nucléico da presente invenção. A seqüência de ácido nucléico da presente invenção, por exemplo, uma seqüência de cDNA ou genômica que codifica um anticorpo da presente invenção, pode ser usada para construir um cassete de expressão recombinante que pode ser introduzido em pelo menos uma célula hospedeira desejada. Um cassete de expressão recombinante tipicamente compreenderá um polinucleotídeo da presente invenção operavelmente ligado às seqüências reguladoras do início transcricional que direcionarão a transcrição do polinucleotídeo na célula hospedeira destinada. Os promotores tanto heterólogos quanto não heterólogos (ou seja, endógenos) podem ser empregados para direcionar a expressão dos ácidos nucléicos da presente invenção.

Em algumas modalidades, os ácidos nucléicos isolados que servem como promotores, intesificadores, ou outros elementos podem ser introduzidos na posição apropriada (a montante, a jusante ou no intron), de uma forma não heteróloga de uma polinucleotídeo da presente invenção de modo a supra ou infra regular a expressão de um polinucleotídeo da presente invenção. Por exemplo, os promotores endógenos podem ser alterados in vivo ou in vitro mediante mutação, eliminação e/ou substituição.

Vetores e Células Hospedeiras

A presente invenção também diz respeito aos vetores que incluem moléculas de ácido nucléico isoladas da presente invenção, células hos-

pedeiras que são geneticamente planejadas com os vetores recombinantes, e a produção de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 por técnicas recombinantes, como é bem-conhecido na técnica. Vide, por exemplo, Sambrook, et al., supra; Ausubel, et al., supra, cada um totalmente incorporado neste documento por referência.

Os polinucleotídeos podem opcionalmente ser unidos em um vetor contendo um marcador selecionável de propagação em um hospedeiro. Geralmente, um vector plasmídeo é introduzido em um precipitado, tal como um precipitado de fosfato de cálcio, ou em um complexo com um lipídeo carregado. Se o vetor for um vírus, ele pode ser acondicionado in vitro usando uma linhagem celular acondicionadora apropriada e depois transduzida em células hospedeiras.

O suplemento de DNA deve ser operativamente ligado a um promotor apropriado. Os construtos de expressão ainda conterão sítios para o início da transcrição, término e, na região transcrita, um sítio de ligação ao ribossoma a translação. A parte de codificação dos transcritos maduros expressos pelos construtos preferivelmente incluirá uma translação que inicia no começo e um códon de término (por exemplo, UAA, UGA ou UAG) apropriadamente posicionado no final do mRNA a ser trasladado, com UAA e UAG preferíveis para a expressão celular de mamífero eucariótica.

Os vetores de expressão preferivelmente, mas opcionalmente, incluirãpelo menos um marcador selecionável. Tais marcadores incluem, por exemplo, mas não são limitados a estes, metotrexato (MTX), diidrofolato reductase (DHFR, Patentes U.S. nºs 4.399.216, 4.634.665, 4.656.134, 4.956.288, 5.149.636, 5.179.017, ampicilina, neomicina (G418), ácido micofenólico, ou resistência de sintetase de glutamina (GS, Patentes U.S. nºs 5.122.464, 5.770.359, 5.827.739) para a cultura de células eucarióticas, e genes de resistência a tetraciclina ou ampicilina para a cultura em *E. coli* e outras bactérias ou procarióticas (as patentes acima são inteiramente integradas por meio desta por referência). Os meios e as condições de cultura apropriados para as células hospedeiras acima descritas são conhecidos na técnica. Os vetores adequados serão facilmente perceptíveis para o artífice

versado. Introdução de um constructo de vetor em uma célula hospedeira pode ser efetuada pela transfecção de fosfato de cálcio, transfecção mediada por DEAE-dextrano, transfecção mediada por lipídeo catiônico, eletroporação, transdução, infecção ou outros métodos conhecidos. Tais métodos são descritos na técnica, tais como Sambrook, supra, capítulos 1-4 e 16-18; Ausubel, supra, capítulos 1, 9, 13, 15, 16.

Pelo menos um anticorpo da presente invenção pode ser expresso de uma forma modificada, tal como uma proteína de fusão, e pode incluir não apenas os sinais de secreção, mas também as regiões funcionais heteróloga adicionais. Por exemplo, uma região de aminoácidos adicionais, particularmente aminoácidos carregados, pode ser adicionada ao N-terminal de um anticorpo para melhorar a estabilidade e persistência na célula hospedeira, durante a purificação, ou durante a subseqüente manipulação e armazenagem. Da mesma forma, os componentes de peptídeo podem ser adicionados a um anticorpo da presente invenção para facilitar a purificação. Tais regiões podem ser removidas antes da preparação final de um anticorpo ou, pelo menos, um fragmento deste. Tais métodos são descritos em muitos manuais-padrão de laboratório, tais como Sambrook, supra, capítulos 17.29-17.42 e 18.1-18.74; Ausubel, supra, capítulos 16, 17 e 18.

Aqueles de habilidade usual na técnica são conhecedores dos números sistemas de expressão disponíveis para a expressão de um ácido nucléico que codifica uma proteína da presente invenção. Alternativamente, os ácidos nucléicos da presente invenção podem ser expressos em uma célula hospedeira mediante a ligação (por manipulação) em uma célula hospedeira que contém DNA endógeno que codifica um anticorpo da presente invenção. Tais métodos são bem-conhecidos na técnica, por exemplo, como descritos nas Patentes U.S. nºs 5.580.734, 5.641.670, 5.733.746, 5.733.761, totalmente incorporadas neste documento por referência.

Ilustrativo das culturas celulares úteis para a produção dos anticorpos, partes específicas ou suas variantes, são as células de mamíferos. Os sistemas celulares de mamífero freqüentemente estarão na forma de monocamadas de células embora as suspensões celulares ou biorreatores de mamífero

também podem ser usadas. Várias linhagens celulares hospedeiras adequadas capazes de expressar proteínas glicosiladas intactas foram desenvolvidas na técnica, e incluem as linhagens celulares COS-1 (por exemplo, ATCC CRL 1650), COS-7 (por exemplo, ATCC CRL-1651), HEK293, BHK21 ( por exemplo, ATCC CRL-10), CHO (por exemplo, ATCC CRL 1610) e BSC-1 (por exemplo, ATCC CRL-26), células Cos-7, células CHO, células hep G2, P3X63Ag8.653, SP2/0-Ag14, células 293, células HeLa e outras mais, que são facilmente disponíveis da, por exemplo, American Type Cultura Collection, Manassas, Va (www.atcc.org). As células hospedeiras preferidas incluem células de origem linfóide, tais como células de mieloma e linfoma. As células hospedeiras particularmente preferidas são células P3X63Ag8.653 (ATCC Accession Number CRL-1580) e células SP2/0-Ag14 (ATCC Accession Number CRL-1851). Em uma modalidade particularmente preferida, a célula recombinante é uma célula P3X63Ab8.653 ou SP2/0-Ag14.

Os vetores de expressão para estas células podem incluir uma ou mais das seguintes seqüências de controle de expressão, tais como, mas não limitado a estes, uma origem de replicação; um promotor (por exemplo, promotores SV40 tardios ou precoces, o promotor CMV (Patentes U.S. nºs 5.168.062, 5.385.839), um promotor HSV tk, um promotor pgk (fosfoglicerato cinase), um promotor EF-1 alfa (Patente U.S. nº 5.266.491), pelo menos um promotor de imunoglobulina humana; um intensificador, e/ou sítios de informação de processamento, tais como sítios de ligação ao ribossoma, sítios de união de RNA, sítios poliadenilação (por exemplo, um sítio de adição T Ag poli A grande SV40), e seqüências terminadoras transcricionais. Vide, por exemplo, Ausubel et al., supra; Sambrook, et al., supra. Outras células úteis para a produção de ácidos nucléicos ou proteínas da presente invenção são conhecidas e/ou disponíveis, por exemplo, da American Type Culture Collection Catalogue of Cell Lines and Hybridomas (www.atcc.org) ou de outras fontes conhecidas ou comerciais.

Quando as células hospedeiras eucarióticas forem empregadas, as seqüências terminadoras de poliadenilação ou transcrição são tipicamente incorporadas no vetor. Um exemplo de uma seqüência terminadora é a

seqüência de poliadenilação do gene do hormônio de crescimento bovino. As seqüências para a recomposição acurada do transcrito também podem ser incluídas. Um exemplo de uma seqüência de recomposição é o intron VP1 de SV40 (Sprague, et al., J. Virol. 45:773-781 (1983)). Adicionalmente, as seqüências genéticas para controlar a replicação na célula hospedeira podem ser incorporadas no vetor, como é conhecido na técnica.

Purificação de um Anticorpo

Um anticorpo anti-IL-23p19 pode ser recuperado e purificado a partir de culturas de células recombinantes por métodos bem-conhecidos incluindo, mas não limitado a eles, purificação de proteína A, precipitação de sulfato de amônio ou etanol, extração de ácido, cromatografia de troca de ânion ou cátion, cromatografia de fosfocelulose, cromatografia de interação hidrofóbica, cromatografia por afinidade, cromatografia de hidroxilapatita e cromatografia de lectina. A cromatografia líquida de alto desempenho ("H-PLC") também podem ser empregada para a purificação. Vide, por exemplo, Colligan, Current Protocols in Immunology, or Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2001), e.g., Chapters 1, 4, 6, 8, 9, 10, cada um aqui inteiramente incorporado por referência.

Os anticorpos da presente invenção incluem os produtos naturalmente purificados, produtos de procedimentos sintéticos químicos, e os produtos produzidos por técnicas de recombinação a partir de um hospedeiro eucariótico, incluindo, por exemplo, levedura, plantas superiores, insetos e células de mamífero. Dependendo do hospedeiro empregado em um procedimento de produção recombinante, o anticorpo da presente invenção pode ser glicosilado ou pode ser não glicosilado, com o glicosilado preferido. Tais métodos são descritos em muitos manuais de laboratório-padrão, tais como Sambrook, supra, Sections 17.37-17.42; Ausubel, supra, Chapters 10, 12, 13, 16, 18 and 20, Colligan, Protein Science, supra, Chapters 12-14, todos totalmente incorporadas neste documento por referência.

Anticorpos Anti-IL-23p19

Um anticorpo anti-IL-23p19 de acordo com a presente invenção inclui qualquer molécula contendo proteína ou peptídeo que compreende

pelo menos uma parte de uma molécula de imunoglobulina, tal como, mas não limitado pelo menos uma parte de ligação ao ligando (LBP), tal como, mas não se limitando a uma região de determinação da complementaridade (CDR) de uma cadeia pesada ou leve ou uma parte de ligação ao ligando desta, uma variável região de cadeia pesada ou cadeia leve, uma região estrutural (por exemplo, FR1, FR2, FR3, FR4 ou fragmento destes, mais opcionalmente compreendendpelo menos uma substituição, inserção ou supressão), uma região constante de cadeia pesada ou cadeia leve, (por exemplo, compreendendpelo menos um CH1, dobradiça 1, dobradiça 2, dobradiça 3, dobradiça 4, CH2 ou CH3, ou fragmento destes, ainda opcionalmente compreendendpelo menos uma substituição, inserção ou supressão), ou qualquer parte destas, que podem ser incorporados em um anticorpo da presente invenção. Um anticorpo da invenção pode incluir ou ser derivado de qualquer mamífero, tal como mas não limitado a eles, um ser humano, um camundongo, um coelho, um rato, um roedor, um primata, ou qualquer combinação destes e outros mais.

Os anticorpos isolados da presente invenção compreendem as seqüências de aminoácido de anticorpo neles codificados por qualquer polinucleotídeo adequado, ou de qualquer anticorpo isolado ou preparado. Preferivelmente, o anticorpo de ser humano ou fragmento de ligação ao antígeno se liga a IL-23p19 humana e, desse modo, parcial ou substancialmente neutralizpelo menos uma atividade biológica da proteína. Um anticorpo, ou parte ou variante especifica deste, que parcialmente ou de preferência substancialmente neutralizpelo menos uma atividade biológica de pelo menos uma proteína IL-23 ou fragmento, pode se ligar à proteína ou fragmento e desse modo inibir as atividades mediadas através da ligação de IL-23 ao receptor de IL-23 ou através de outros mecanismos dependentes ou mediados pela IL-23. Como aqui utilizado, o termo "anticorpo de neutralização" refere-se a um anticorpo que pode inibir uma atividade dependente da IL-23 por cerca de 20 a 120%, preferivelmente pelo menos por cerca de 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% ou mais dependendo do ensaio. A capacidade de um anticorpo anti-IL-

23p19 em inibir uma atividade dependente da IL-23 é preferivelmente avaliada por pelo menos um ensaio de proteína ou receptor de IL-23 adequado, conforme descrito aqui e/ou como conhecido na técnica. Um anticorpo humano da invenção pode ser de qualquer classe (IgG, IgA, IgM, IgE, IgD, etc.) ou isotipo e pode compreender uma cadeia leve kappa ou lambda. Em uma modalidade, o anticorpo de ser humano compreende um IgG de cadeia pesada ou fragmento definido, por exemplo, pelo menos um dos isótipos IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4 (por exemplo, γ1, γ2, γ3 ou γ4). Os anticorpos deste tipo podem ser preparados por empregar um camundongo transgênico ou outro mamífero não humano transgênico compreendendpelo menos um transgeno de cadeia leve humano (por exemplo, IgG, IgA e IgM) como aqui descrito e/ou como conhecido na técnica. Em uma outra modalidade, o anticorpo de IL-23p19 anti-humano compreende uma cadeia pesada de IgG1 e uma cadeia leve de IgG1.

Pelo menos um anticorpo da invenção se liga pelo menos um determinado epítopo específico pelo menos uma proteína IL-23p19, subunidade, fragmento, parte ou qualquer combinação das mesmas. Pelo menos um epítopo pode compreender pelo menos uma região de ligação ao anticorpo que compreende pelo menos uma parte da proteína, cujo epítopo é preferivelmente compreendido de pelo menos uma parte extracelular, solúvel, hidrófila, externa ou citoplasmática da proteína. Pelo menos um epítopo específico pode compreender qualquer combinação de pelo menos uma seqüência de aminoácido de pelo menos 1 a 3 aminoácidos para a parte especifica inteira de aminoácidos contíguos de resíduos de aminoácido 93-105 da SEQ ID NO: 145 (que contém a seqüência sinal inicial de 19 aminoácidos para a subunidade de proteína p19) (ou resíduos de aminoácido 74-86 da seqüência de p19 sem a inclusão da seqüência de sinal), por exemplo, resíduos de aminoácido 93, 93-94, 93-95, 93 -96, 97-99, 100-102 da SEQ ID NO: 145, etc. que inclui quaisquer partes ou combinações destas seqüências.

Geralmente, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno da presente invenção compreenderá uma região de ligação ao antígeno que compreende pelo menos uma região variável de cadeia pesada e pelo me-

nos uma região de determinação da complementaridade (CDR1, CDR2 e CDR3) ou variante de pelo menos uma região variável de cadeia pesada e pelo menos uma região de determinação da complementaridade (CDR1, CDR2 e CDR3) ou variante de pelo menos uma região variável de cadeia leve. Opcionalmente, as seqüências de CDR podem ser derivadas das seqüências da linha germinativa humana ou seqüências da linha germinativa intimamente unida. Por exemplo, as CDRs de uma biblioteca sintética derivada das CDRs de camundongo originais podem ser usadas. Como um exemplo não limitativo, o anticorpo ou parte ou variante de ligação ao antígeno pode compreender pelo menos uma CDR3 de cadeia pesada, por exemplo, selecionada a partir de SEQ ID NOS: 1-6, 7-39 e 146, ou 40-45, e/ou uma CDR3 DE cadeia leve, por exemplo, selecionada da SEQ ID NOS: 46-51, 52-57 ou 58-79. Em uma modalidade particular, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno pode ter uma região de ligação ao antígeno que compreende pelo menos uma parte de pelo menos uma CDRde pesada cadeia (isto é, CDR1, CDR2 e/ou CDR3) (por exemplo, aquelas aqui descritas). Em outra modalidade particular, o anticorpo ou parte ou variante de ligação ao antígeno pode ter uma região de ligação ao antígeno que compreende pelo menos uma parte de pelo menos uma CDR de cadeia leve (ou seja, CDR1, CDR2 e/ou CDR3) (por exemplo, aquelas aqui descritas).

Em uma modalidade preferida, as três CDRs de cadeia pesada e as três CDRs de cadeia leve do anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno podem ser preparadas por quimicamente juntar as várias partes (por exemplo, CDRs, estrutura) do anticorpo utilizando técnicas convencionais, mediante a preparação e expressão de uma (isto é, uma ou mais) molécula de ácido nucléico que codifica o anticorpo usando técnicas convencionais de tecnologia de ADN recombinante ou usando qualquer outro método adequado.

O anticorpo anti-IL-23p19 pode compreender pelo menos uma de uma região variável de cadeia pesada ou leve tendo uma seqüência de aminoácido definida. Por exemplo, em uma modalidade preferida, o anticorpo anti-IL-23p19 compreende pelo menos uma de pelo menos uma região variável de pesada cadeia opcionalmente selecionada das SEQ ID NOS: 80,

81, 86-92, 99, 101, 103-112, 117-127, e 147 e/ou pelo menos uma região variável de cadeia leve opcionalmente selecionada das SEQ ID NOS: 82-85, 93-98, 100, 102, 113-116 e 128-132. Os anticorpos que se ligam à IL-23p19 humana, e que compreendem uma região variável de cadeia pesada ou leve definida podem ser preparados utilizando métodos adequados. O anticorpo, parte ou variante específica pode ser expresso utilizando a codificação de ácido nucléico ou parte deste em uma célula hospedeira apropriada.

Códigos de Aminoácido

Os aminoácidos que compõem os anticorpos anti-IL-23p19 da presente invenção são muitas vezes abreviados. As designações de aminoácido podem ser indicadas pela designação do aminoácido pelo seu código de letra único, seus três códigos letra de, nome, ou de três códons de nucleotídeo, como é bem compreendido na técnica (vide Alberts, B., et al., Molecular Biology of The Cell, Third Ed., Garland Publishing, Inc., New York, 1994). Um anticorpo anti-IL-23p19 da presente invenção pode incluir uma ou mais substituições, supressões ou adições de aminoácido, a partir das mutações naturais ou manipulação humana, conforme especificado neste documento. Os aminoácidos em um anticorpo anti-IL-23p19 da presente invenção que são essenciais para a função podem ser identificados por métodos conhecidos na técnica, tais como a mutagênese direcionada ao sítio ou mutagênese de varredura de alanina (por exemplo, Ausubel, supra, Chapters 8, 15; Cunningham and Wells, Science 244:1081-1085 (1989)). Este último procedimento introduz mutações de alanina em cada resíduo na molécula. As moléculas mutantes resultantes são depois testadas com relação à atividade biológica, tal como, mas não limitado a ela, pelo menos uma atividade de neutralização de IL-23. Os sítios que são críticos para a ligação de anticorpo também podem ser identificados pela análise estrutural, tal como cristalização, ressonância magnética nuclear ou rotulação por fotoafinidade (Smith, et al., J. Mol. Biol. 224:899-904 (1992) e de Vos, et al., Science 255:306-312 (1992)).

Os anticorpos anti-IL-23p19 da presente invenção podem incluir, mas não estão limitados a estes, pelo menos uma parte de seqüência ou

combinação selecionada de 5 a todos os aminoácidos contíguos das seqüências de região variável SEQ ID NOS: 82-85 , 93-98, 100, 102, 113-116 e 128-132 e SEQ ID NOS: 80, 81, 86-92, 99, 101, 103-112, 117-127 e 147.

Variantes não limitativas que podem aumentar ou manter pelo menos uma das atividades listadas incluem, mas não são limitadas a estas, qualquer um dos polipeptídeos acima, ainda compreendendpelo menos uma mutação que corresponde pelo menos uma substituição nos resíduos variados entre as seqüências de aminoácido variantes.

Um anticorpo anti-IL-23p19 opcionalmente pode ainda compreender um polipeptídeo com uma seqüência de aminoácidos que varia entre as seqüências aqui descritas (por exemplo, uma ou mais substituições conservadores a partir das seqüências aqui fornecidas). Da mesma forma, mais especificamente, a presente invenção compreende variantes da seqüência de aminoácido de uma região variável de cadeia leve das SEQ ID NOS: 82-85, 93-98, 100, 102, 113-116 e 128-132 ou da seqüência de aminoácido de uma região variável da cadeia pesada das SEQ ID NOS: 80, 81, 86-92, 99, 101, 103-112, 117-127 e 147.

Como aqueles de habilidade observarão, a presente invenção inclui pelo menos um anticorpo biologicamente ativo da presente invenção. Os anticorpos biologicamente ativos possuem uma atividade específica de pelo menos 20%, 30% ou 40%, e, de preferência, pelo menos 50%, 60%, ou 70%, e, mais preferivelmente pelo menos 80%, 90% ou 95% a 1000% ou mais do que a do anticorpo nativo (não sintético), endógeno ou relacionado e conhecido. Métodos de análise e quantificação da atividade enzimática e especificidade de substrato são bem-conhecidos para aqueles versados na técnica.

Em um outro aspecto, a invenção diz respeito aos anticorpos humanos e fragmentos de ligação ao antígeno, como aqui descrito, que são modificados pela ligação covalente de um componente orgânico. Tais modificações podem produzir um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno com propriedades farmacocinéticas melhoradas (por exemplo, meia-vida no soro *in vivo* aumentada). O componente orgânico pode ser um grupo polimérico hidrófilo linear ou ramificado, grupo de ácido graxo, ou grupo de éster de

ácido graxo. Nas modalidades particulares, o grupo polimérico hidrófilo pode ter um peso molecular de cerca de 800 a cerca de 120.000 Dáltons e pode ser uma polialcano glicol (por exemplo, polietileno glicol (PEG), polipropileno glicol (PPG)), polímero de carboidrato, polímero de aminoácidos ou polivinil pirrolidona, e o grupo de ácido graxo ou éster de ácido graxo pode compreender de cerca de oito a cerca de quarenta átomos de carbono.

Os anticorpos modificados e fragmentos de ligação ao antígeno da invenção podem compreender um ou mais componentes orgânicos que são covalentemente ligados, direta ou indiretamente, ao anticorpo. Cada componente orgânico que é ligado a um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno da invenção pode independentemente ser um grupo polimérico hidrófilo, um grupo de ácido graxo ou um grupo de éster de ácido graxo. Como aqui utilizado, o termo "ácido graxo" abrange ácidos monocarboxílicos e ácidos dicarboxílicos. Um "grupo polimérico hidrófilo" como o termo é utilizado neste documento, refere-se a um polímero orgânico que é mais solúvel em água do que em octano. Por exemplo, a polilisina é mais solúvel em água do que em octano. Assim, um anticorpo modificado pela ligação covalente de polilisina é enquadrado pela invenção. Os polímeros hidrófilos adequados para a modificação de anticorpos da invenção podem ser lineares ou ramificados e incluem, por exemplo, polialcano glicóis (por exemplo, PEG, monometóxi polietileno-glicol (mPEG), PPG e similares), carboidratos (por exemplo, dextrano, celulose, oligossacarídeos, polissacarídeos e similares), polímeros de aminoácidos hidrófilos (por exemplo, polilisina, poliarginina, poliaspartato e outros mais), óxidos de polialcano (por exemplo, óxido de polietileno, óxido de polipropileno e similares) e polivinil pirrolidona. Preferencialmente, o polímero hidrofílico que modifica o anticorpo da invenção possui um peso molecular de cerca de 800 a cerca de 150.000 Dáltons como uma entidade molecular separada. Por exemplo, $PEG_{5000}$ e $PEG_{20.000}$, em que o subscrito é o peso molecular médio do polímero em Dálton, podem ser usados. O grupo polimérico hidrófilo pode ser substituído com um a cerca de seis grupos de alquila, ácido graxo ou éster de ácido graxo. Os polímeros hidrófilos que são substituídos com um grupo de ácido graxo ou éster

de ácido graxo podem ser preparados pelo emprego de métodos adequados. Por exemplo, um polímero que compreende um grupo de amina pode ser acoplado a um carboxilato do ácido graxo ou éster de ácido graxo, e um carboxilato ativado (por exemplo, ativado com diimidazol de N,N-carbonila) em um ácido graxo ou éster de ácido graxo pode ser acoplado a um grupo de hidroxila em um polímero.

Os ácidos graxos e os ésteres de ácido graxo adequados para modificar os anticorpos da invenção podem ser saturados ou podem conter uma ou mais unidades de insaturação. Os ácidos graxos que são adequados para modificar os anticorpos da invenção incluem, por exemplo, n-dodecanoato (C, laurato), n-tetradecanoato ($C_{14}$, miristato), n-octadecanoato ($C_{18}$, estearato), n-eicosanoato ($C_{20}$, araquidato), N-docosanoato ($C_{22}$, beenato), n-triacontanoato ($C_{30}$), n-tetracontanoato ($C_{40}$) cis-Δ9-octadecanoato ($C_{18}$, oleato), cis-Δ5,8,11,14-eicosatetraenoato total ($C_{20}$, araquidonato), ácido octanodióico, ácido tetradecanodióico, ácido octadecanodióico, ácido docosanidióico, e outros mais. Os ésteres de ácido graxo adequados incluem monoésteres de ácidos dicarboxílicos que compreende um grupo de alquila inferior linear ou ramificado. O grupo de alquila inferior pode compreender de um a cerca de doze, preferivelmente, de um a cerca de seis, átomos de carbono.

Os anticorpos humanos modificados e fragmentos de ligação ao antígeno podem ser preparados usando métodos adequados, tais como pela reação com um ou mais agentes de modificação. Um "agente de modificação" como o termo é aqui utilizado, refere-se a um grupo orgânico adequado (por exemplo, polímero hidrófilo, um ácido graxo, um éster de ácido graxo), que compreende um grupo de ativação. Um "grupo de ativação" é um componente químico ou grupo funcional que pode, sob condições apropriadas, reagir com um segundo grupo químico desse modo formando uma ligação covalente entre o agente de modificação e o segundo grupo químico. Por exemplo, os grupos de ativação reativos a amina incluem grupos eletrofílicos, tais como tosilato, mesilato, halo (cloro, bromo, flúor, iodo), ésteres N-hidroxissuccinimidílicos (NHS), e outros mais. Os grupos de ativação que podem reagir com os tióis incluem, por exemplo, maleimida, iodoacetila, acrilolila, dissulfetos de piridila,

tiol de ácido 5-tiol-2-nitrobenzóico (TNB-tiol), e outros mais. Um grupo funcional de aldeído pode ser acoplado nas moléculas contendo amina ou hidrazida, e um grupo de azida pode reagir com o grupo de fósforo trivalente um para formar ligações de fosforamidato ou fosforimida. Métodos adequados para introduzir grupos de ativação nas moléculas são conhecidos na técnica (vide, por exemplo, Hermanson, G. T., Bioconjugate Techniques, Academic Press: San Diego, CA (1996)). Um grupo de ativação pode ser ligado diretamente ao grupo orgânico (por exemplo, polímero hidrofílica, ácido graxo, éster de ácido graxo), ou através de um componente ligador, por exemplo, um grupo $C_1$-$C_{12}$ divalente em que um ou mais átomos de carbono podem ser substituídos por uma heteroátomo, tal como oxigênio, nitrogênio ou enxofre. Os componentes ligadores adequados incluem, por exemplo, tetraetileno glicol, $-(CH_2)_3-$, $-NH-(CH_2)_6-NH-$, $-(CH_2)_2-NH-$ and $-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH-NH-$. Os agentes de modificação que compreendem um componente ligador podem ser produzidos, por exemplo, mediante a reação de um mono-Bpc-alquildiamina (por exemplo, mono-Boc-etilenodiamina, mono-Boc-diaminoexano) com um ácido graxo, na presença de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (DCE) para formar uma ligação de amida entre a amina livre e o carboxilato de ácido graxo. O grupo de proteção Boc pode ser removido do produto mediante o tratamento com ácido trifluoroacético (TFA) para expor uma amina primária que pode ser acoplada a um outro carboxilato, como descrito, ou pode ser reagido com anidrido maléico e o produto resultante ciclizado para produzir um derivado de maleimido ativado do ácido graxo. (Vide, por exemplo, Thompson, et al., WO 92/16221, cujos ensinamentos inteiros são aqui incorporados por referência).

Os anticorpos modificados da invenção podem ser produzidos pela reação de um anticorpo humano ou fragmento de ligação ao antígeno com um agente de modificação. Por exemplo, os componentes orgânicos podem ser ligados ao anticorpo em uma maneira não específica ao sítio mediante o emprego de um agente de modificação reativo a amina, por exemplo, um éster de NHS de PEG. Os anticorpos humanos modificados ou fragmentos de ligação ao antígeno também podem ser preparados pela re-

dução das ligações de dissulfeto (por exemplo, ligações de dissulfeto intracadeia) de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno. O anticorpo reduzido ou fragmento de ligação ao antígeno pode então ser reagido com um agente de modificação reativo a tiol para produzir o anticorpo modificado da invenção. Os anticorpos humanos modificados e fragmentos de ligação ao antígeno compreendendo um componente orgânico que é ligado aos sítios específicos de um anticorpo da presente invenção podem ser preparados utilizando métodos adequados, tais como proteólise reverso (Fisch et al., Bioconjugate Chem., 3:147-153 (1992); Werlen et al., Bioconjugate Chem., 5:411-417 (1994); Kumaran et al., Protein Sci. 6 (10):2233-2241 (1997); Itoh et al., Bioorg. Chem., 24(1):59-68 (1996); Capellas et al., Biotechnol. Bioeng., 56(4):456-463 (1997)), e os métodos descritos em Hermanson, GT, Bioconjugate Techniques, Academic Press: San Diego, CA (1996).

Anticorpos Antiidiótipos para Composições de Anticorpo Anti-IL-23p19

Além dos anticorpos anti-IL-23p19 monoclonais, a presente invenção também é direcionada a um anticorpo anti-idiotípico (anti-Id) específico para tais anticorpos da invenção. Um anticorpo anti-Id é um anticorpo que reconhece determinantes únicos geralmente associados com a região de ligação ao antígeno de um outro anticorpo. O anti-Id pode ser preparado mediante a imunização de um animal da mesma espécie e tipo genético (por exemplo, cepa de camundongo) como a fonte do anticorpo Id com o anticorpo ou uma região contendo CDR deste. O animal imunizado reconhecerá e responderá aos determinantes idiotípicos do anticorpo de imunização e produzirá um anticorpo anti-Id. O anticorpo anti-Id também pode ser usado como um "imunógeno" para induzir uma resposta imuneem mais um outro animal, produzindo uma assim chamado anti anticorpo anti-anti-Id.

A presente invenção fornece também pelo menos uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 compreendendpelo menos um, pelo menos dois, pelo menos três, pelo menos quatro, pelo menos cinco, pelo menos seis ou mais anticorpos anti-IL-23p19 desta, como aqui descrito e/ou como conhecido na técnica que são fornecidos em uma composição, mistura ou forma de ocorrência não natural. Tais composições compreendem composi-

ções de ocorrência não natural compreendendpelo menos uma ou duas variantes, domínios, fragmentos ou variantes específicas de comprimento total C- e/ou N-terminalmente suprimidas, da seqüência de aminoácido de anticorpo anti-IL-23p19 selecionada do grupo consistindo em 70 a 100% dos aminoácidos contíguos das SEQ ID NOS: 1-132, 146, e 147, ou fragmentos, domínios ou variantes específicos destes. As composições de anticorpo anti-IL-23p19 preferidas incluem pelo menos um ou dois fragmentos, domínios ou variantes de comprimento total de pelo menos uma parte contendo CDR ou LBP da seqüência de anticorpo anti-IL-23p19 aqui descrita, por exemplo, de 70 a 100% das SEQ do ID NOS: 1-132, 146, e 147, ou fragmentos, domínios ou variantes específicos destas. Outras composições preferidas compreendem, por exemplo, de 40 a 99% de pelo menos um dos 70 a 100% das SEQ ID NOS: 1-132, 146, e 147, ou fragmentos, domínios ou variantes específicos destas. Tais percentagens de composição são em peso, volume, concentração, molaridade ou molalidade como soluções líquidas ou secas, misturas, suspensões, emulsões, partículas, pó ou colóides, como é conhecido na técnica ou como aqui descrito.

Composições de Anticorpo Compreendendo Outros Ingredientes Terapeuticamente Ativos

As composições de anticorpo da invenção podem opcionalmente ainda compreender uma quantidade mais eficaz de pelo menos um composto ou proteína selecionado de pelo menos um de um fármaco antiinfeccioso, um fármaco do sistema cardiovascular (CV), um fármaco do sistema nervoso central (CNS), um fármaco do sistema nervoso autonômico (ANS), um fármaco do trato respiratório, um fármaco do trato gastrointestinal (GI), um fármaco hormonal, um fármaco para o equilíbrio de fluido ou eletrólito, um fármaco hematológico, um antineoplástico, um fármaco da imunomodulação, um fármaco oftálmico, ótico ou nasal, um fármaco tópico, um fármaco nutricional, ou similar. Tais fármacos são bem-conhecidos na técnica, incluindo formulações, indicações, posologia e administração para cada um aqui apresentado (vide, por exemplo, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson,

Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ; Pharmcotherapy Handbook, Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT, cada um totalmente incorporado neste documento por referência).

O fármaco antiinfeccioso pode ser selecionado de amebicidas ou pelo menos um de antiprotozoários, antelmínticos, antifúngicos, antimaláricos, antituberculóticos ou pelo menos um antilepróticos, aminoglicosídeos, penicilinas, cefalosporinas, tetraciclinas, sulfonamidas, fluoroquinolonas, antivirais, antiinfecciosos macrólidos, e antiinfecciosos variados. O fármaco CV pode ser pelo menos um selecionado de inotrópicos, antiarrítmicos, antianginái, anti-hipertensivos, antilipêmicos, e fármacos cardiovasculares variados. O fármaco do CNS pode ser pelo menos um selecionado de analgésicos não narcóticos ou pelo menos um selecionado de antipiréticos, fármacos antiinflamatórios não esteroidais, narcóticos ou pelo menos um analgésico opióide, sedativos-hipnóticos, anticonvulsivantes, antidepressivos, fármacos antiansiedade, antipsicóticos, estimulantes do sistema nervoso central, antiparkinson, e fármacos do sistema nervoso central variados. O fármaco do ANS pode ser pelo menos um selecionado de colinérgicos (parassimpatomiméticos), anticolinérgicos, adrenérgicos (simpaticomiméticos), bloqueadores adrenérgicos (simpatolíticos), relaxantes musculares esqueléticos, e bloqueadores neuromusculares. O fármaco do trato respiratório pode ser pelo menos um selecionado de anti-histamínicos, broncodilatadores, expectorantes ou pelo menos um antitussivo, e fármacos respiratórios variados. O fármaco do trato GI pode ser pelo menos um selecionado de antiácidos, ou pelo menos um adsorvente ou pelo menos um antiflatulência, enzimas digestivas ou pelo menos um solubilizante de cálculo biliar, antidiarréicos, laxantes, antieméticos, e fármaco antiúlcera. O fármaco hormonal pode ser pelo menos um selecionado de corticosteróides, andrógenos ou pelo menos um esteróide anabolizante, estrogênio ou pelo menos uma progestina, gonadotropina, fármaco antidiabético ou pelo menos um glucagon, hormônio da tiróide, antagonista do hormônio da tiróide, hormônio da pituitária, e fármaco semelhante a paratireóide. O fármaco para equilíbrio de fluido e eletrólito pode ser pelo menos um selecionado de diuréticos, eletrólitos ou pelo menos uma solução de substituição, acidificante ou pelo menos um alcalinizan-

te. O fármaco hematológico pode ser pelo menos um selecionado de hematínicos, anticoagulantes, derivados de sangue, e enzimas trombolíticas. Os antineoplásticos podem ser pelo menos um selecionado de fármacos alquilantes, antimetabólitos, antineoplásticos antibióticos, antineoplásticos que alteram o equilíbrio hormonal, e antineoplásticos variados. O fármaco de imunomodulação pode ser pelo menos um selecionado de imunossupressores, vacinas ou pelo menos um toxóide, antitoxina ou pelo menos uma antivenina, imunossoro, e modificador da resposta biológica. Os fármacos oftálmicos, óticos, nasais podem ser pelo menos um selecionado de antiinfecciosos oftálmicos, antiinflamatórios oftálmicos, mióticos, midriáticos, vasoconstritores oftálmicos, fármacos oftálmicos óticos e nasais variados. O fármaco tópico pode ser pelo menos um selecionado de antiinfecciosos locais, escabicidas ou pelo menos um pediculicida ou corticosteróide tópico. O fármaco nutricional pode ser pelo menos um selecionado de vitaminas, minerais ou calóricos. Vide, por exemplo, os conteúdos de Nursing 2001 Drug Handbook, supra.

Pelo menos um analgésico ou antipirético não narcótico pode ser pelo menos um selecionado de acetaminofeno, aspirina, trisalicilato de colina magnésio, diflunisal, e salicilato de magnésio. Pelo menos um fármaco anti-inflamatório não esteroidal pode ser pelo menos um selecionado de celecoxib, diclofenaco de potássio, diclofenaco de sódio, etodolac, fenoprofen cálcio, flurbiprofen, ibuprofeno, indometacina, triidratado de indometacina sódica, cetoprofeno, cetorolac trometamina, nabumetona, naproxeno, naproxeno sódico, oxaprozin, piroxicam, rofecoxib, e sulindac. Pelo menos um narcótico ou analgésico opióide pode ser pelo menos um selecionado de cloridreto de alfentanil, cloridreto de buprenorfina, tartarato de butorfanol, fosfato de codeína, sulfato de codeína, citrato de fentanila, sistema transdérmico de fentanil, transmucosa de fentanil, cloridreto de hidromorfona, cloridreto de meperidina, cloridreto de metadona, cloridreto de morfina, sulfato de morfina, tartrato de morfina, cloridreto de nalbufina, cloridreto de oxicodona, pectinato de oxicodona, cloridreto de oximorfona, cloridreto de pentazocina, cloridreto de pentazocina e cloridreto de naloxona, lactato de pentazocina, cloridreto de propoxifeno, napsilato de propoxifeno, cloridreto de remi-

fentanil, citrato de sufentanil, e cloridreto de tramadol. Pelo menos um hipnótico sedativo pode ser pelo menos um selecionado de cloral hidratado, estazolam, cloridreto de flurazepam, pentobarbital, pentobarbital sódico, fenobarbital sódico, secobarbital sódico, temazepam, triazolam, zaleplon e tartarato de zolpidem. Pelo menos um anticonvulsivante pode ser pelo menos um selecionado de acetazolamida sódica, carbamazepina, clonazepam, clorazepate dipotássio, diazepam, divalproato sódico, etosuximida, fosfenitoína sódica, gabapentina, lamotrigina, sulfato de magnésio, fenobarbital, fenobarbital sódico, fenitoína, fenitoína sódica, fenitoína sódica (ampliada), primidona, cloridreto de tiagabina, topiramato, valproato sódico e ácido valpróico. Pelo menos um antidepressivo pode ser pelo menos um selecionado de cloridreto de amitriptilina, pamoato de amitriptilina, amoxapina, cloridreto de bupropiona, bromidreto de citalopram, cloridreto de clomipramina, cloridreto de desipramina, cloridreto de doxepina, cloridreto de fluoxetina, cloridreto de imipramina, pamoato de imipramina, mirtazapina, cloridreto de nefazodona, cloridreto de nortriptilina, cloridreto de paroxetina, sulfato de fenelzina, cloridreto de sertralina, sulfato de tranilcipromina, maleato de trimipramina, e cloridreto de venlafaxina. Pelo menos um fármaco antiansiedade pode ser pelo menos um selecionado de alprazolam, cloridreto de buspirona, clordiazepóxido, cloridreto de clordiazepóxido, clorazepato de dipotássio, diazepam, cloridreto de doxepina, embonato de hidroxizina, cloridreto de hidroxizina, pamoato de hidroxizina, lorazepam, mefrobamato, cloridreto de midazolam, e oxazepam. Pelo menos um fármaco antipsicótico pode ser pelo menos um selecionado de cloridreto de clorpromazina, clozapina, decanoato de flufenazina, enantato de fluefenazina, cloridreto de flufenazina, haloperidol, decanoato de haloperidol, lactato de haloperidol, cloridreto de loxapina, succinato de loxapina, besilato de mesoridazina, cloridreto de molindona, olanzapina, perfenazina, pimozida, proclorperazina, fumarato de quetiapina, risperidona, cloridreto de tioridazina, tiotixeno, cloridreto de tiotixeno, e cloridreto de trifluoperazina. Pelo menos um estimulante do sistema nervoso central pode ser pelo menos um selecionado de sulfato de anfetamina, cafeína, sulfato de dextroanfetamina, cloridreto de doxapram, cloridreto de metanfetamina, clo-

ridreto de metilfenidato, modafinil, pemolina e cloridreto de fentermina. Pelo menos um antiparkinson pode ser pelo menos um selecionado de cloridreto de amantadina, mesilato de benztropina, cloridreto de biperideno, lactato de biperideno, mesilato de bromocriptina, levodopa, carbidopa, entacapone, levodopa, mesilato de pergolide, dicloridreto de pramipexol, cloridreto de ropinirol, cloridreto de selegilina, tolcapone e cloridreto de triexifenidila. Pelo menos um fármaco do sistema nervoso central variado pode ser pelo menos um selecionado de cloridreto de bupropiona, cloridreto de donepezil, droperidol, maleato de fluvoxamina, carbonato de lítio, citrato de lítio, cloridreto de naratriptano, nicotina polacrilex, sistema transdérmico de nicotina, propofol, benzoato de rizatriptano, monoidrato cloridreto de sibutramina, succinato de sumatriptano, cloridreto de tacrina e zolmitriptano. (Vide, por exemplo, pp. 337-530 of Nursing 2001 Drug Handbook).

Pelo menos um colinérgico (por exemplo, parassimpaticomimético) pode ser pelo menos um selecionado de cloreto de betanecol, cloreto de edrofônio, brometo de neostigmina, metilsulfato de neostigmina, salicilato de fisostigmina, e brometo de piridostigmina. Pelo menos um anticolinérgico pode ser pelo menos um selecionado de sulfato de atropina, cloridreto de diciclomina, glicopirrolato, hiosciamine, sulfato de hiosciamina, brometo de propantelina, escopolamina, butilbrometo de escopolamina, e bromidreto de escopolamina. Pelo menos um adrenérgico (simpaticomimético) pode ser pelo menos um selecionado de cloridreto de dobutamina, cloridreto de dopamina, bitartrato de metaraminol, bitartrato de noradrenalina, cloridreto de fenilefrina, cloridreto de pseudoefedrina, e sulfato de pseudoefedrina. Pelo menos um bloqueador adrenérgico (simpatolítico) pode ser pelo menos um selecionado de mesilato de diidroergotamina, tartrato de ergotamina, maleato de metisergide, e cloridreto de propranolol. Pelo menos um relaxante do músculo esquelético pode ser pelo menos um selecionado de baclofen, carisoprodol, clorzoxazona, cloridreto de ciclobenzaprina, dantroleno sódico, metocarbamol, e cloridreto de tizanidina. Pelo menos um bloqueador neuromuscular pode ser pelo menos um selecionado de besilato de atracúrio, besilato de cisatracúrio, cloreto de doxacúrio, cloreto de mivacúrio, brometo de

pancurônio, brometo de pipecurônio, brometo de rapacurônio, brometo de rocurônio, cloreto de succinilcolina, cloreto de tubocurarina, brometo de vecurônio. (Vide, por exemplo, pp. 531-84 of Nursing 2001 Drug Handbook).

Pelo menos uma anti-histamina pode ser pelo menos uma selecionada de maleato de bromfeniramina, cloridreto de cetirizina, maleato de clorfeniramina, fumarato de clemastina, cloridreto de ciproeptadina, cloridreto de difenidramina, cloridreto de fexofenadina, loratadina, cloridreto de prometazina, teoclato de prometazina, e cloridreto de triprolidina. Pelo menos um broncodilatador pode ser pelo menos um selecionado de albuterol, sulfato de albuterol, aminofilina, sulfato de atropina, sulfato de efedrina, adrenalina, bitartrato de epinefrina, cloridreto de adrenalina, brometo de ipratrópio, isoproterenol, cloridreto de isoproterenol, sulfato de isoproterenol, cloridreto de levalbuterol, sulfato de metaproterenol, oxtrifilina, acetato de pirbuterol, xinafoato de salmeterol, sulfato de terbutalina, e teofilina. Pelo menos um expectorante ou antitússico pode ser pelo menos um selecionado de benzonatato, fosfato de codeína, sulfato de codeína, bromidreto de dextrametorfan, cloridreto de difenidramina, guaifenesina, e cloridreto de hidromorfona. Pelo menos um fármaco respiratório variado pode ser pelo menos um fármaco selecionado de acetilcisteína, dipropionato de beclometasona, beractant, budesonida, calfactant, cromolina sódica, dornase-alfa, epoprostenol sódico, flunisolide, propionato de fluticasona, montelucast sódico, nedocromil sódico, palivizumab, triancinolona acetonide, zafirlucast, e zileuton. (Vide, por exemplo, pp. 585-642 of Nursing 2001 Drug Handbook).

Pelo menos um antiácido, adsorvente ou antiflatulência pode ser pelo menos um selecionado de carbonato de alumínio, hidróxido de alumínio, carbonato de cálcio, magaldrate, hidróxido de magnésio, óxido de magnésio, simeticona, e bicarbonato de sódio. Pelo menos uma enzima digestiva ou solubilizante de cálculo biliar pode ser pelo menos uma selecionada de pancreatina, pancrelipase, e ursodiol. Pelo menos um antidiarréico pode ser pelo menos um selecionado de atapulgita, subsalicilato bismuto, cálcio policarbofil, cloridreto de difenoxilato e sulfato de atropina, loperamida, acetato de octretídeo , tintura ópio, e tintura de ópio (canforada). Pelo menos um

laxante pode ser pelo menos um selecionado de bisocodil, policarbofil de cálcio, cascara sagrada, extrato fluido aromático de cascara sagrada, extrato fluido de cascara sagrada, óleo de castor, docusato cálcio, docusato sódico, glicerina, lactulose, citrato de magnésio, hidróxido de magnésio, sulfato de magnésio , metilcelulose, óleo mineral, polietileno glicol ou solução de eletrólito, psílio, sena, e fosfatos de sódio. Pelo menos um antiemético pode ser pelo menos um selecionado de cloridreto de clorpromazina, dimenidrinato, mesilato de dolasetron, dronabinol, cloridreto de granisetron, cloridreto de meclizina, cloridreto de metoclopramida, cloridreto de ondansetron, perfenazina, proclorperazina, edisilato de proclorperazina, maleato de proclorperazina, cloridreto de prometazina, escopolamina, maleato de tietilperazina, e cloridreto de trimetobenzamida. Pelo menos um fármaco antiúlcera pode ser pelo menos um selecionado de cimetidina, cloridreto de cimetidina, famotidina, lansoprazol, misoprostol, nizatidina, omeprazol, rabeprozol sódico, citrato de rantidina bismuto, cloridreto de ranitidina, e sucralfato. (Vide, por exemplo, pp. 643-95 of Nursing 2001 Drug Handbook).

Pelo menos um corticosteróide pode ser pelo menos um selecionado de betametasona, acetato de betametasona ou fosfato de betametasona, fosfato de betametasona sódica, acetato de cortisona, dexametasona, acetato de dexametasona, fosfato de dexametasona, acetato de fludrocortisona, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, fosfato de hidrocortisona sódica, succinato de hidrocortisona sódica, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato de metilprednisolona sódica, prednisolona, acetato de prednisolona, fosfato de prednisolona sódica, tebutato de prednisolona, prednisona, triancinolona, acetonida de triancinolona, triancinolona e diacetato. Pelo menos um andrógeno ou esteróide anabolizante pode ser pelo menos um selecionado de danazol, fluoximesterona, metiltestosteroae, decanoato de nandrolona, fenpropionato de nandrolona, testosterona, cipionato de testosterona, testosterona de enantato, propionato de testosterona, e sistema transdérmico de testosterona. Pelo menos um estrogênio ou progestina pode ser pelo menos um selecionado de estrógenos esterificados, estradiol, cipionato de estradiol, sistema transdérmico de acetato de estradiol/noretisterona, valera-

to de estradiol, estrogênios (conjugados), estropipato, etinil estradiol, etinil estradiol e desogestrel, etinil estradiol e diacetato de etinodiol, etinil estradiol e desogestrel, etinil estradiol e diacetato de etinodiol, etinil estradiol e levonorgestrel, etinil estradiol e noretindrona, etinil estradiol e acetato de noretindrona, etinil estradiol e norgestimato, etinil estradiol e norgestrel, etinil estradiol e noretindrona e acetato e fumarato ferroso, levonorgestrel, acetato de medroxiprogesterona, mestranol e noretindron, noretindrona, acetato de noretindrona, norgestrel, e progesterona. Pelo menos uma gonadroptropina pode ser pelo menos uma selecionada de acetato de ganirelix, acetato de gonadorelina, acetato histrelina e menotropinas. Pelo menos um antidiabético ou glucagon pode ser pelo menos um selecionado de acarbose, cloropropamida, glimepirida, glipizida, glucagon, gliburide, insulinas, cloridreto de metformina, miglitol, cloridreto de pioglitazona, repaglinida, maleato de rosiglitazona, e troglitazona. Pelo menos um hormônio de tiróide pode ser pelo menos um selecionado de levotiroxina sódica, liotironina sódica, liotrix e tiróide. Pelo menos um antagonista do hormônio da tiróide pode ser pelo menos um selecionado de metimazol, iodeto de potássio, iodeto de potássio (solução saturada), propiltiouracil, iodo radioativo (iodeto de sódio $^{131}I$), e solução de iodo forte. Pelo menos um hormônio da pituitária pode ser pelo menos um selecionado de corticotropina, cosintropina, acetato de desmofressina, acetato de leuprolide, corticotropina repositória, somatrem, somatropina, e vasopressina. Pelo menos um fármacos semelhante a paratireóide pode ser pelo menos um selecionado de calcifediol, calcitonina (humana), calcitonina (salmão), calcitriol, diidrotaquisterol, e etidronato dissódio. (Vide, por exemplo, pp. 696-796 of Nursong 2001 Drug Handbook).

Pelo menos um diurético pode ser pelo menos um selecionado de acetazolamida, acetazolamida sódica, cloridreto de amiloride, bumetanide, clortalidona, etacrinato sódico, ácido etacrínico, furosemida, hidroclorotiazida, indapamida, manitol, metolazona, espironolactona, torsemida, triantreno, e uréia. Pelo menos um eletrólito ou solução de substituição pode ser pelo menos um selecionado de acetato de cálcio, carbonato de cálcio, cloreto de cálcio, citrato de cálcio, glubionato de cálcio, gluceptato de cálcio, gluconato de cálcio, lactato de cálcio, fosfato de cálcio (dibásico), fosfato de

cálcio (tribásico), dextrano (peso molecular elevado), dextrano (peso molecular baixo), hetaamido, cloreto de magnésio, sulfato de magnésio, acetato de potássio, bicarbonato de potássio, cloreto de potássio, gluconato de potássio, injeção de Ringer, injeção de Ringer (submetido a lactato), e cloreto de sódio. Pelo menos um acidificante ou alcalinizante pode ser pelo menos um selecionado de bicarbonato de sódio, lactato de sódio, e trometamina. (Vide, por exemplo, pp. 797-833 of Nursing 2001 Drug Handbook).

Pelo menos um hematínico pode ser pelo menos um selecionado de fumarato ferroso, gluconato ferroso, sulfato ferroso, sulfato ferroso (seco), dextrano de ferro, sorbitol de ferro, complexo de polissacarídeo-ferro, complexo de gluconato férrico sódico. Pelo menos um anticoagulante pode ser pelo menos um selecionado de ardeparina sódica, dalteparina sódica, danaparóide sódico, enoxaparina sódica, heparina cálcio, heparina sódica, varfarina sódica. Pelo menos um derivado de sangue pode ser pelo menos um selecionado de albumina 5%, albumina 25%, fator anti-hemopílico, complexo coagulante anti-inibidor, antitrombina III (humana), fator IX (humana), complexo do fator IX, e frações de proteína plasmática. Pelo menos uma enzima trombolítica pode ser pelo menos uma selecionada de alteplase, anistreplase, reteplase (recombinante), estreptoquinase, e uroquinase. (Vide, por exemplo, pp. 834-66 of Nursing 2001 Drug Handbook).

Pelo menos um fármaco de alquilação pode ser pelo menos um selecionado de busulfan, carboplatina, carmustina, clorambucil, cisplatina, ciclofosfamida, Ifosfamida, lomustina, cloridreto de mecloretamina, melfalano, cloridreto de melfalano, estreptozocina, temozolomida e tiotepa. Pelo menos um antimetabólico pode ser pelo menos um selecionado de capecitabina, cladribina, citarabina, floxuridina, fosfato de fludarabina, fluorouracila, hidroxiuréia, mercaptopurina, metotrexato, metotrexato sódico, e tioguanina. Pelo menos um antineoplásico antibiótico pode ser pelo menos um selecionado de sulfato de bleomicina, dactinomicina, citrato de daunorrubicina lipossômico, cloridreto de daunorrubicina, cloridreto de doxorrubicina, cloridreto de doxorrubicina lipossômico, cloridreto de epirrubicina, cloridreto de idarrubicina, mitomicina, pentostatina, plicamicina e valrubicina. Pelo menos um

antineoplásico que altera o equilíbrio de hormônio pode ser pelo menos um selecionado de anastrozol, bicalutamida, fosfato de estramustina sódico, exemestano, flutamida, acetato de goserelina, letrozol, acetato de leuprolide, acetato de megestrol, nilutamida, citrato de tamoxifeno, testolactona, e citrato de toremifeno. Pelo menos um antineoplásico variado pode ser pelo menos um selecionadas de asparaginase, bacilo Calmette-Guerin (BCG) (intravesical vivo), dacarbazina, docetaxel, etoposídeo, fosfato de etoposídeo, cloridreto de gencitabina, cloridreto de irinotecano, mitotano, cloridreto de mitoxantrona, paclitaxel, pegaspargase, porfímero sódico, cloridreto de procarbazina, rituximab, teniposídeo, cloridreto de topotecan, trastuzumab, tretinoína, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, e tartrato de vinorrelbina. (Vide, por exemplo, pp. 867-963 of Nursing 2001 Drug Handbook).

Pelo menos um imunossupressor pode ser pelo menos um selecionado de azatioprina, basiliximab, ciclosporina, daclizumab, globulina imune linfocítica, muromonab-CD3, micofenolato mofetil, cloridreto de micofenolato mofetil, sirolimus e tacrolimus. Pelo menos uma vacina ou toxóide pode ser uma selecionada de vacina BCG, vacina contra cólera, difteria e toxóides de tétano (adsorvidos), difteria e toxóides de tétano e vacina antipertússis acelular adsorvida, toxóides de difteria e tétano e vacina antipertússis de célula integral, vacinas conjugadas *Haemophilius* b, vacina contra a hepatite A (inativada), vacina hepatisis B (recombinante), tipos trivalentes 1999-2000 da vacina contra o vírus da gripe A & B (antígeno de superfície purificada), tipos trivalentes 1999-2000 da vacina contra o vírus da gripe A & B (subvirion ou subvirion purificada), purificada (virion inteiro), vacina do vírus da encefalite japonesa (inativada), vacina contraa doença de Lyme (recombinante OspA), vacina contra o vírus do sarampo e caxumba e rubéola (vivo), vacina contra o vírus do sarampo e caxumba e rubéola (vivo atenuado), vacina contra o vírus do sarampo (vivo atenuado), vacina meningocócica polissacarídica, vacina contra o vírus da caxumba (vivo), vacina contra epidemias, vacina pneumocócica (polivalente), vacina contra poliomielite (inativada), vacina contra poliomielite (viva, oral, trivalente), vacina contra raiva (adsorvida), vacina contra raiva (células humanas diplóides), vacina contra o vírus da ca-

xumba e rubéola (vivo), vacina contra o vírus da rubéola (vivo, atenuado), toxóide tetânico (adsorvido), toxóide tetânico (fluido), vacina contra febre tifóide (oral), vacina contra febre tifóide (parenteral), vacina polissacarídeo contra febre tifóide Vi, vacina contra vírus da varicela, e a vacina contra a febre amarela. Pelo menos uma antitoxina ou antivenina pode ser pelo menos uma selecionada de uma antivenina de aranha viúva negra, Crotalidae antiveneno (polivalente), antitoxina de difteria (eqüina), e antivenina *Micrurus fulvius*. Pelo menos um soro imune pode ser pelo menos um selecionado de imunoglobulina citomegalovírus (intravenosa), imunoglobulina da hepatite B (ser humano), imunoglobulina intramuscular, imunoglobulina intravenosa, imunoglobulina da raiva (ser humano), imunoglobulina do vírus sincicial respiratório intravenosa (ser humano), $Rh_0$(D) imunoglobulina (ser humano), $Rh_0$(D) imunoglobulina intravenosa (ser humano), imunoglobulina de tétano (ser humano), e imunoglobulina de varicela-zoster. Pelo menos um modificador da resposta biológica pode ser pelo menos um selecionado de aldesleucina, epoetina-alfa, filgrastim, acetato de glatiramero para a injecção, interferon alfacon-1, interferon alfa-2a (recombinante), interferon alfa-2b (recombinante), interferon beta-1a, interferon beta-1b (recombinante), interferon gama-1b, cloridreto de levamisol, oprelvecina, e sargramostim. (Vide, por exemplo, pp. 964-1040 of Nursing 2001 Drug Handbook).

Pelo menos um antiinfeccioso oftálmico pode ser selecionado de bacitracina, cloranfenicol, cloridreto de ciprofloxacina, eritromicina, sulfato de gentamicina, ofloxacina 0,3%, sulfato de polimixina B, sulfacetamida sódica 10%, sulfacetamida sódica 15%, sulfacetamida sódica 30%, tobramicina, e vidarabina. Pelo menos um anti-inflamatório oftálmico pode ser pelo menos um selecionado de dexametasona, fosfato de dexametasona, diclofenaco sódico 0,1%, fluorometolona, flurbiprofen sódico, cetorolac trometamina, acetato de prednisolona (suspensão) e fosfato de prednisolona sódica (solução). Pelo menos um miótico pode ser pelo menos um selecionado de cloreto de acetilcolina, carbacol (intraocular), carbacol (tópico), iodeto de ecotiofato, pilocarpina, cloridreto de pilocarpina, e nitrato de pilocarpina. Pelo menos um midriático pode ser pelo menos um selecionado de sulfato de atropina,

cloridreto de ciclopentolato, cloridreto de epinefrina, borato de epinefrila, bromidreto de homatropina, cloridreto de fenilefrina, bromidreto de escopolamina, e tropicamida. Pelo menos um vasoconstritor oftálmico pode ser pelo menos um selecionado de cloridreto de nafazolina, cloridreto de oximetazolina, e cloridreto de tetraidrozolina. Pelo menos um oftálmico variado pode ser pelo menos um selecionado de cloridreto de apraclonidina, cloridreto de betaxolol, tartrato de brimonidina, cloridreto de carteolol, cloridreto de dipivefrina, cloridreto de dorzolamida, difumarato de emedastina, fluoresceína sódica, fumarato de cetotifen, latanoprost, cloridreto de levobunolol, cloridreto de metipranolol, cloreto de sódio (hipertônico), e maleato de timolol. Pelo menos um ótico pode ser pelo menos um selecionado de ácido bórico, peróxido de carbamida, cloranfenicol, e condensado de trietanolamina polipeptídeo oleato. Pelo menos um fármaco nasal pode ser pelo menos um selecionado de dipropionato de beclometasona, budesonida, sulfato de efedrina, cloridreto de adrenalina, flunisolide, propionato de fluticasona, cloridreto de nafazolina, cloridreto de oximetazolina, cloridreto de fenilefrina, cloridreto tetraidrozolina, triancinolona acetonida, e cloridreto de xilometazolina. (Vide, por exemplo, pp. 1041-97 of Nursing 2001 Drug Handbook).

Pelo menos um antiinfeccioso local pode ser pelo menos um selecionado de aciclovir, anfotericina B, creme de ácido azeláico, bacitracina, nitrato de butoconazol, fosfato de clindamicina, clotrimazol, nitrato de econazol, eritromicina, sulfato de gentamicina, cetoconazol, acetato de mafenida, metronidazol (tópico), nitrato de miconazol, mupirocin, cloridreto de naftifina, sulfato de neomicina, nitrofurazona, nistatina, sulfadiazina prata, cloridreto de terbinafina, terconazol, cloridreto de tetraciclina, tioconazol e tolnaftato. Pelo menos um escabicida ou pediculicida pode ser pelo menos um selecionado de crotamiton, lindano, permetrina, e piretrinas. Pelo menos um corticosteróide tópico pode ser pelo menos um selecionado de dipropionato de betametasona, valerato de betametasona, propionato de clobetasol, desonide, desoximetasona, dexametasona, fosfato de sódio dexametasona, diacetato de diflorasona, fluocinolona acetonide, fluocinonide, flurandrenolide, propionato de fluticasona, halcionide, hidrocortisona, acetato de hidrocorti-

sona, butirato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, furoato de mometasone, e triancinolona acetonide. (Vide, por exemplo, pp. 1098-1136 of Nursing 2001 Drug Handbook).

Pelo menos uma vitamina ou mineral pode ser pelo menos um selecionado de vitamina A, vitamina do complexo B, cianocobalamina, ácido fólico, hidroxocobalamina, cálcio leucovorina, niacina, niacinamida, cloridreto de piridoxina, riboflavina, cloridreto de tiamina, vitamina C, vitamina D, colecalciferol, ergocalciferol, vitamina D analógica, doxercalciferol, paricalcitol, vitamina E, vitamina K analógica, fitonadiona, fluoreto de sódio, fluoreto de sódio (tópico), oligoelementos, cromo, cobre, iodo, manganês, selênio e zinco. Pelo menos um calórico pode ser pelo menos um selecionado de infusões de aminoácido (cristalino), infusões de aminoácido em dextrose, infusões de aminoácido com eletrólitos, infusões de aminoácido com eletrólitos em dextrose, infusões de aminoácidos para insuficiência hepática, infusões de aminoácido para estresse metabólico elevado, infusões de aminoácido para insuficiência renal, dextrose, emulsões de gordura, e triglicerídeos de cadeia média. (Vide, por exemplo, pp. 1137-63 of Nursing 2001 Drug Handbook).

As composições de anticorpo anti-IL-23p19 da presente invenção podem ainda compreender pelo menos uma de qualquer quantidade adequada e eficaz de uma composição ou composição farmacêutica que compreende pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 colocado em contato ou administrado a uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente com necessidade de tal modulação, tratamento ou terapia, opcionalmente ainda compreendendpelo menos um selecionado de pelo menos um antagonista TNF (por exemplo, mas não limitado a um antagonista químico ou de proteína TNF, anticorpo ou fragmento monoclonal ou policlonal de TNF, um receptor de TNF solúvel (por exemplo, p55, p70 ou P85) ou fragmento, polipeptídeos fusão destes, ou um antagonista de TNF de molécula pequena, por exemplo, proteína de ligação a TNF I ou II (TBP-1 ou TBP-II), nerelimonmab, infliximab, etanercept, CDP -571, CDP-870, afelimomab, lenercept, e outros mais), um anti-reumático (por exemplo, metotrexato, auranofin, aurotioglicose, azatioprina, etanercept, tiomalato de ouro sódico, sulfato de hidroxicloro-

quina, leflunomida, sulfasalzina), um relaxante muscular, um narcótico, um fármaco anti-inflamatório não esteróide (NSAID), um analgésico, um anestésico, um sedativo, um anestésico local, um bloqueador neuromuscular, um antimicrobiano (por exemplo, aminoglicosídeos, um antifúngico, um antiparasitário, um antiviral, um carbapenem, cefalosporina, uma fluorquinolona, um macrólido, uma penicilina, uma sulfonamida, uma tetraciclina, um outro antimicrobiano), um antipsoriático, um corticosteróide, um esteróide anabolizante, um agente relacionado com diabetes, um mineral, uma nutricional, um agente da tiróide, uma vitamina, um hormônio relacionado com cálcio, uma antidiarréico, um antitussivo, um antiemético, uma antiúlcera, um laxante, um anticoagulante, uma eritropoietina (por exemplo, epoetina-alfa), um filgrastim (por exemplo, G-CSF, Neupogen), um sargramostim (GM-CSF, Leukine), uma imunização, uma imunoglobulina, um imunossupressor (por exemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), um hormônio do crescimento, um fármaco de reposição hormonal, um modulador do receptor de estrogênio, um midriático, um cicloplégico, um agente de alquilação, um antimetabólico, um inibidor da mitose, um radiofármaco, um antidepressivo, agente antimaníaco, um antipsicótico, um ansiolítico, um hipnótico, um simpaticomimético, um estimulante, donepezil, tacrina, uma medicação contra asma, um beta-agonista, um esteróide inalado, um inibidor de leucotrieno, uma metilxantina, uma cromolina, uma adrenalina ou análogo, dornase-alfa (Pulmozyme), uma citocina ou um antagonista de citocina. Exemplos não limitativos de tais citocinas incluem, mas não são limitados a estes, qualquer um de IL-1 a IL-28 (por exemplo, IL-1, IL-2, etc.). As dosagens adequadas são bem-conhecidas na técnica. Vide, por exemplo, Wells et al., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), cada uma destas referências são aqui inteiramente incorporadas por referência.

Tais anticânceres ou antiinfecciosos podem também incluir moléculas de toxina que são associadas, ligadas, co-formuladas ou co-administradas com pelo menos um anticorpo da presente invenção. A toxina

pode opcionalmente agir para seletivamente matar as células ou tecidos patológicos. As células patológicas podem ser uma célula de câncer ou outra. Tais toxinas podem ser, mas não estão limitados a elas, toxina ou fragmento de toxina purificada ou recombinante compreendendpelo menos um domínio citotóxico funcional de toxina, por exemplo, selecionado de pelo menos um de rícino, toxina de difteria, uma toxina venenosa, ou uma toxina bacteriana. O termo toxina também inclui tanto endotoxinas quanto exotoxinas produzidas por quaisquer bactérias ou vírus mutantes ou recombinantes de ocorrência natural que possam causar qualquer condição patológica em seres humanos e outros mamíferos, incluindo choque tóxico, que pode resultar em morte. Tais toxinas podem incluir, mas não são limitadas a estas, enterotoxina lábil ao calor de *E. coli* enterotoxigênica (LT), enterotoxina estável ao calor (ST), citotoxina *Shigella*, enterotoxinas *Aeromonas*, toxina-1 da síndrome de choque tóxico (TSST-1), enterotoxina Staphylococcal A (SEA), B (SEB) ou C (SEC), enterotoxinas Streptococcal e similares. Tais bactérias incluem, mas não são limitada a estas, cepas de uma espécie de *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroemorrágica (por exemplo, cepas do sorotipo 0157:H7), espécie Staphylococcus (por exemplo, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus pyogenes*), espécie *Shigella* (por exemplo, *Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella boydii, e Shigella sonnei*), espécie Salmonella (por exemplo, *Salmonella typhimurium, Salmonella cólera-suis, Salmonella enteritidis*), espécie Clostridium (por exemplo, *Clostridium perfringens, Clostridium dificile, Clostridium botulinum*), espécie Camphlobacter (por exemplo, *Camphlobacter jejuni, Camphlobacter fetus*), espécie Heliobacter (por exemplo, *Heliobacter pylori*), espécie Aeromonas (por exemplo, *Aeromonas sobria, Aeromonas hydrophila, Aeromonas caviae*), espécie Pleisomonas shigelloides, Yersina enterocolitica, vibrios (por exemplo, *Vibrios cholerae, Vibrios parahemolyticus*), espécie *Klebsiella, Pseudomonas aeruginosa, e Streptococci.* Vide, por exemplo, Stein, ed., INTERNAL MEDICINE, 3rd ed., pp 1-13, Little, Brown and Co., Boston, (1990); Evans et al., eds., Bacterial Infections of Humans: Epidemiology and Control, 2d. Ed., pp 239-254, Plenum Medical Book Co., New York (1991); Mandell et al, Principles and Practice of Infecti-

ous Diseases, 3d. Ed., Churchill Livingstone, New York (1990); Berkow et al, eds., The Merck Manual, 16th edition, Merck and Co., Rahway, N.J., 1992; Wood et al, FEMS Microbiology Immunology, 76:121-134 (1991); Marrack et al, Science, 248:705-711 (1990), os conteúdos destas referências são aqui incorporadas inteiramente por referência.

Compostos, composições ou combinações de anticorpo anti-IL-23p19 da presente invenção podem ainda compreender pelo menos um de qualquer auxiliar adequado, tal como, mas não limitado a estes, diluente, aglutinante, estabilizante, tamponantes, sais, solventes lipofílicos, conservantes, adjuvantes ou similar. Os auxiliares farmaceuticamente aceitáveis são preferidos. Exemplos não limitativos e os métodos de preparação de tais soluções estéreis são bem-conhecidos na técnica, tais como, mas limitado a estes, Gennaro, Ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18$^{th}$ Edition, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Os veículos farmaceuticamente aceitáveis podem ser rotineiramente selecionados os quais são adequados para o modo de administração, solubilidade e/ou estabilidade da composição de anticorpo anti-IL-23p19, fragmento ou variante também conhecida na técnica ou como aqui descrito.

Os excipientes e aditivos farmacêuticos úteis na presente composição incluem, mas não são limitados a estes, proteínas, peptídeos, aminoácidos, lipídeos e carboidratos (por exemplo, açúcares, incluindo monossacarídeos, di-, tri-, tetra-, e oligossacarídeos; açúcares derivados, tais como alditóis, ácidos aldônicos, açúcares esterificados e outros mais; e polissacarídeos ou polímeros de açúcar), que podem estar presentes isoladamente ou em combinação, compreendendo isoladamente ou em combinação de 1 a 99,99% em peso ou volume. Excipientes de proteína exemplares incluem albumina sérica, tais como albumina sérica humana (HSA), albumina humana recombinante (rHA), gelatina, caseína, e outras mais. Os componentes de aminoácido/anticorpo representativos, que também podem funcionar em uma capacidade de tampão, incluem alanina, glicina, arginina, betaína, histidina, ácido glutâmico, ácido aspártico, cisteína, lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, aspartame, e outros mais. Um aminoácido

preferido é glicina.

Os excipientes de carboidrato adequados para uso na invenção incluem, por exemplo, monossacarídios, tais como frutose, maltose, galactose, glicose, D-manose, sorbose, e outros mais; dissacarídeos, tais como lactose, sacarose, trealose, celobiose, e outros mais; polissacarídeos, tais como rafinose, melezitose, maltodextrinas, dextranos, amidos, e outros mais; e alditóis, tais como o manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol, sorbitol (glicose), mioinositol e similares. Os excipientes de carboidrato preferidos para uso na presente invenção são manitol, trealose e rafinose.

As composições de anticorpo anti-IL-23p19 também podem incluir um tampão ou um agente de ajuste do pH; tipicamente, o tampão é um sal preparado de um ácido orgânico ou base. Os tamponantes representativos incluem sais de ácido orgânico, tais como sais de ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucónico, ácido carbônico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético ou ácido ftálico; cloridreto de Tris, trometamina, ou tampões de fosfato. Os tamponantes preferidos para uso nas presentes composições são sais ácidos orgânicos, tais como citrato.

Adicionalmente, as composições de anticorpo anti-IL-23p19 da invenção podem incluir excipientes/aditivos poliméricos, tais como polivinilpirrolidonas, ficolls (um açúcar polimérico), dextratos (por exemplo, ciclodextrinas tais como 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina), polietileno glicóis, agentes flavorizantes, agentes antimicrobianos, adoçantes, antioxidantes, agentes antiestáticos, tensoativos (por exemplo, polissorbatos, tais como "Tween 20" e "Tween 80"), lipídeos (por exemplo, fosfolipídeos, ácidos graxos), esteróides (por exemplo, colesterol), e agentes quelantes (por exemplo, EDTA).

Estes e outros excipientes e/ou aditivos farmacêuticos conhecidos adequados para uso nas composições de anticorpo anti-IL-23p19, parte ou variante de acordo com a invenção são conhecidos na técnica, por exemplo, como listados em "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19th ed., Williams & Williams, (1995), and in the "Physician's Desk Reference", 52nd ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), cujas divulgações são aqui inteiramente incorporadas por referência. Os materiais veí-

culos ou excipientes preferidos são carboidratos (por exemplo, e sacarídeos e alditóis) e tampões (por exemplo, citrato) ou agentes poliméricos. Uma molécula transportadora exemplar é o mucopolissacarídeo, ácido hialurônico, que podem ser úteis para a liberação intra-articular.

Formulações

Como observado acima, a invenção fornece formulações estáveis, que preferivelmente compreendem um tampão de fosfato com soro fisiológico ou um sal selecionado, assim como soluções e formulações conservadas contendo um conservante assim como formulações conservadas de múltiplos usos adequadas uso farmacêutico ou veterinário, compreendendo pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 em uma formulação farmaceuticamente aceitável. As formulações conservadas contêm pelo menos um conservante conhecido ou opcionalmente selecionado do grupo consistindo em pelo menos um fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, álcool benzílico, nitrito fenilmercúrico, fenoxietanol, formaldeído, clorobutanol, cloreto de magnésio (por exemplo, hexaidrato), alquilparabeno (metila, etila, propila, butila e outros mais), cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio, deidroacetato de sódio e timerosal, polímeros, ou misturas destes em um diluente aquoso. Qualquer concentração ou mistura adequada pode ser usada como conhecido na técnica, tal como cerca de 0,0015%, ou qualquer faixa, valor, ou fração. Exemplos não limitativos incluem, sem conservante, cerca de 0,1 a 2% de m-cresol (por exemplo, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,9, 1,0%), cerca de 0,1 a 3% de álcool benzílico (por exemplo, 0,5, 0,9, 1,1, 1,5, 1,9, 2,0, 2,5%), cerca de 0,001 a 0,5% de tiomersal (por exemplo, 0,005, 0,01), cerca de 0,001 a 2,0% de fenol (por exemplo, 0,05, 0,25, 0,28, 0,5, 0,9, 1,0%), de 0,0005 a 1,0% de alquilparabeno(s) (por exemplo, 0,00075, 0,0009, 0,001, 0,002, 0,005, 0,0075, 0,009, 0,01, 0,02, 0,05, 0,075, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,75, 0,9, 1,0%), e outros mais.

Como observado acima, a invenção fornece um artigo de fabricação, compreendendo material de embalagem e pelo menos um frasco compreendendo uma solução de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 com os tamponantes e/ou conservantes prescritos, opcionalmente em um

diluente aquoso, em que dito material de embalagem compreende um rótulo que indica que tal solução pode ser mantida durante um período de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60 , 66, 72 horas ou mais. A invenção ainda compreende um artigo de fabricação, compreendendo material de embalagem, um primeiro frasco que compreende liofilizadpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, e um segundo frasco que compreende um diluente aquoso de tamponante ou conservante prescrito, em que dito material de embalagem compreende um rótulo que instrui um paciente a reconstituir pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s no diluente aquoso para formar uma solução que pode ser mantida durante um período de vinte e quatro horas ou mais.

Pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s utilizado de acordo com a presente invenção pode ser produzido por meios recombinantes, incluindo de célula de mamífero ou preparações transgênicas, ou pode ser purificado a partir de outras fontes biológicas, como aqui descrito ou como conhecido na técnica.

A faixa de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 no produto da presente invenção inclui quantidades que rendem após a reconstituição, se em um sistema úmido/seco, concentrações de cerca de 1,0 µg/ml a cerca de 1000 mg/ml, embora concentrações mais baixas e mais elevadas são operáveis e são dependentes do veículo de liberação destinado, por exemplo, as formulações de solução serão diferentes dos métodos de emplastro transdérmico, pulmonar, transmucosal, ou bomba osmótica ou micro.

Preferivelmente, o diluente aquoso opcionalmente ainda compreende um conservante farmaceuticamente aceitável. Os conservantes preferidos incluem aqueles selecionados do grupo consistindo em fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, álcool benzílico, alquilparabeno (metila, etila, propila, butila e outros mais), cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio, deidroacetato de sódio e timerosal, ou misturas destes. A concentração de conservante utilizado na formulação é uma concentração suficiente para produzir um efeito anti-microbiano. Tais concentrações são dependentes do conservante selecionado e são facilmente determinadas pelo artí-

fice qualificado.

Outros excipientes, por exemplo, agentes de isotonicidade, tamponantes, antioxidantes, e intensificadores de conservante, podem ser opcional e preferivelmente adicionados ao diluente. Um agente de isotonicidade, tal como glicerina, é comumente usado em concentrações conhecidas. Um tamponante fisiologicamente tolerado é preferivelmente adicionado para fornecer controle de pH melhorado. As formulações podem abranger uma faixa ampla de pHs, tais como de cerca de pH 4 a cerca de pH 10, e as faixas preferidas de cerca de pH 5 a cerca de pH 9, e uma faixa mais preferida de cerca de 6,0 a cerca de 8,0. Preferivelmente, as formulações da presente invenção possuem um pH entre cerca de 6,8 e cerca de 7,8. Os tamponantes preferidos incluem tamponantes de fosfato, mais preferivelmente, fosfato de sódio, em particular, salina tamponada de fosfato (PBS).

Outros aditivos, tais como um solubilizante farmaceuticamente aceitável como Tween 20 (monolaurato de polioxietileno sorbitano (20)), Tween 40 (monopalmitato de polioxietileno sorbitano (20)), Tween 80 (monooleato de polioxietileno sorbitano (20)), Pluronic F68 (copolímeros de bloco de polioxietileno polioxipropileno), e PEG (polietileno glicol) ou tensoativos não iônicos, tais como polissorbato 20 ou 80 ou poloxâmero 184 ou 188, polióis Pluronic®, outros co-polímeros de bloco, e quelantes, tais como EDTA e EGTA, podem opcionalmente ser adicionados nas formulações ou composições para reduzir a agregação. Esses aditivos são particularmente úteis se uma bomba ou recipiente de plástico for utilizado para administrar a formulação. A presença de tensoativo farmaceuticamente aceitável atenua a propensão da proteína se agregar.

As formulações da presente invenção podem ser preparadas por um processo que compreende misturar pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s e um conservante selecionado do grupo consistindo em fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, álcool benzílico, alquilparabeno, (metila, etila, propila, butila e similares), cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio, deidroacetato de sódio e timerosal ou misturas destes em um diluente aquoso. A Mistura dpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s e conservante

em um diluente aquoso é realizada utilizando procedimentos convencionais de dissolução e mistura. Para preparar uma formulação adequada, por exemplo, uma quantidade medida de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 em solução tampão é combinada com o conservante desejado em uma solução tampão em quantidades suficientes para fornecer a proteína e o conservante nas concentrações desejadas. Variações deste processo seriam reconhecidas por uma pessoa de habilidade usual na técnica. Por exemplo, a ordem dos componentes que são adicionados, se os aditivos adicionais foram usados, a temperatura e o pH em que a formulação é preparada, são todos fatores que podem ser otimizados para a concentração e meios de administração utilizados.

As formulações reivindicadas podem ser fornecidas aos pacientes como soluções límpidas ou como frascos duplos compreendendo um frasco de liofilizado de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 que é reconstituído com um segundo frasco contendo água, um conservante e/ou excipientes, preferivelmente, um tampão de fosfato e/ou soro fisiológico e um sal selecionado, em um diluente aquoso. Um frasco de solução único ou frasco duplo que requer reconstituição pode ser reutilizado várias vezes e pode ser suficiente para um único ou vários ciclos de tratamento do paciente e, assim, pode fornecer um regime de tratamento mais conveniente do que o atualmente disponível.

Os presentes artigos reivindicados de fabricação são úteis para a administração durante um período que varia de imediato a vinte e quatro horas ou mais. Conseqüentemente, os artigos presentemente reivindicados de fabricação oferecem vantagens significativas para o paciente. As formulações da invenção podem opcionalmente ser armazenado com segurança em temperaturas de cerca de 2 °C a cerca de 40 °C e retêm a atividade biológica da proteína por longos períodos de tempo, permitindo assim um rótulo de embalagem indicando que a solução pode ser mantida e/ou utilizada durante um período de 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 ou 96 horas ou mais. Se o diluente conservado for utilizado, tal rótulo pode incluir o uso de até 1 a 12 meses, meio ano, um ano e meio e/ou dois anos.

As soluções de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s da invenção podem ser preparadas por um processo que compreende a mistura de pelo menos um anticorpo em um diluente aquoso. A mistura é realizada utilizando procedimentos convencionais de dissolução e mistura. Para preparar um diluente adequado, por exemplo, uma quantidade medida de pelo menos um anticorpo em água ou tampão é combinada em quantidades suficientes para fornecer a proteína e, opcionalmente, um conservante ou tampão nas concentrações desejadas. Variações deste processo devem ser reconhecidas por uma pessoa de habilidade usual na técnica. Por exemplo, a ordem dos componentes que são adicionados, se os aditivos adicionais são utilizados, a temperatura e o pH em que a formulação é preparada, são todos fatores que podem ser otimizados para a concentração e meios de administração utilizados.

Os produtos presentemente reivindicados podem ser fornecidos aos pacientes como soluções límpidas ou como frascos duplos compreendendo um frasco de liofilizado de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 que é reconstituído com um segundo frasco contendo o diluente aquoso. Um frasco de solução único ou um frasco duplo que requer reconstituição pode ser reutilizado várias vezes e pode ser suficiente um único ou vários ciclos de tratamento do paciente e, assim, fornece um regime de tratamento mais conveniente do que o correntemente disponível.

Os produtos reivindicados podem ser fornecidos indiretamente aos pacientes através do fornecimento às farmácias, clínicas, ou outra tais instituições e instalações, soluções límpidas ou frascos duplos compreendendo um frasco de liofilizado de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 que é reconstituído com um segundo frasco contendo o diluente aquoso. A solução límpida neste caso pode ser de até um litro ou mesmo maior no tamanho, proporcionando um grande cavidade do qual pequenas porções dpelo menos uma solução de anticorpo podem ser exibida uma ou várias vezes para a transferência em frascos menores e fornecidas pela farmácia ou clínica para seus clientes e/ou pacientes.

Os dispositivos reconhecidos compreendendo sistemas de fras-

co único incluem dispositivos de caneta-injetora para a liberação de uma solução tais como BD Pens, BD Autojector®, Humaject®, NovoPen®, B-D®Pen, AutoPen®, and OptiPen®, GenotropinPen®, Genotronorm Pen®, Humatro Pen®, Reco-Pen®, Roferon Pen®, Biojector®, Iject®, J-tip Needle-Free Injector®, Intraject®, Medi-Ject®, por exemplo, como produzidos ou desenvolvidos pela Becton Dickensen (Franklin Lakes, NJ, www.bectondickenson.com), Disetronic (Burgdorf, Switzerland, www.disetronic.com; Bioject, Portland, Oregon (www.bioject.com); National Medical Products, Weston Medical (Peterborough, UK, www.weston-medical.com), Medi-Ject Corp (Minneapolis, MN, www. mediject.com), e dispositivos similarmente adequados. Os dispositivos reconhecidos compreendendo um sistema de frasco duplo incluem aqueles sistemas de caneta-injetora para reconstituição de um fármaco liofilizado em um cartucho para a liberação da solução reconstituída, tal como a HumatroPen®. Exemplos de outros dispositivos adequados incluem seringas pré-carregadas, autoinjetores, injetores livres de agulha e conjuntos de infusão IV livres de agulhas.

Os produtos presentemente reivindicados incluem material de embalagem. O material de embalagem fornece, além da informação requerida pelas agências reguladoras, as condições sob as quais o produto pode ser utilizado. O material de embalagem da presente invenção fornece instruções para o paciente para reconstituir pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s no diluente aquoso para formar uma solução e utilizar a solução durante um período de 2 a 24 horas ou maior para o produto de dois frascos, aguado/seco. Para o frasco único, produto de solução, o rótulo indica que tal solução pode ser utilizada durante um período de 2 a 24 horas ou maior. Os produtos presentemente reivindicados são úteis para uso de produto farmacêutico humano.

As formulações da presente invenção podem ser preparadas por um processo que compreende a mistura de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s e um tamponante selecionado, preferivelmente, um tampão de fosfato contendo soro fisiológico ou um sal selecionado. A mistura dpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s e tamponante em um diluente aquoso é realiza-

da utilizando procedimentos convencionais de dissolução e mistura. Para preparar uma formulação adequada, por exemplo, uma quantidade medida de pelo menos um anticorpo em água ou tampão é combinada com o agente tamponante desejado em água em quantidades suficientes para fornecer a proteína e tampão nas concentrações desejadas. Variações deste processo devem ser reconhecidas por uma pessoa de habilidade usual na técnica. Por exemplo, a ordem em que os componentes são adicionados, se aditivos adicionais são utilizados, a temperatura e o pH em que a formulação é preparada, são todos fatores que podem ser otimizados para a concentração e meios de administração utilizados.

As formulações estáveis ou conservadas reivindicadas podem ser fornecidas aos pacientes como soluções límpidas ou como frascos duplos compreendendo um frasco de liofilizado de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 que é reconstituído com um segundo frasco contendo um conservante ou tamponante e excipientes em um diluente aquoso. Um frasco de solução único ou um frasco duplo que requer reconstituição pode ser reutilizado várias vezes e pode ser suficiente para um único ou vários ciclos de tratamento do paciente e, assim, fornece um regime de tratamento mais conveniente do que o correntemente disponível.

Outras formulações ou métodos de estabilização do anticorpo anti-IL-23p19 podem resultar em uma solução límpida diferente de pó liofilizado compreendendo o anticorpo. Entre as soluções não límpidas estão as formulações compreendendo suspensões particuladas, ditos particulados sendo uma composição contendo o anticorpo anti-IL-23p19 em uma estrutura de dimensão variável e conhecidos diferentemente como uma microesfera, micropartícula, nanopartícula, nanoesfera ou lipossoma. Tais formulações particuladas relativamente homogêneas, essencialmente esféricas contendo um agente ativo podem ser formadas mediante o contato de uma fase aquosa contendo o agente ativo e um polímero e uma fase não aquosa seguida por evaporação da fase não aquosa para provocar a coalescência de partículas a partir da fase aquosa como ensinado na U.S. 4.589.330. As micropartículas porosas podem ser preparadas usando uma primeira fase conten-

do o agente e um polímero disperso em um solvente contínuo e remoção de dito solvente da suspensão mediante a secagem por congelamento ou diluição-extração-precipitação como ensinado na U.S. 4.818.542. Os polímeros preferidos para tais preparações são copolímeros ou polímeros naturais ou sintéticos selecionados do grupo consistindo em gelatina ágar, amido, arabinogalactana, albumina, colágeno, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, glicolídeo-L(-) lactídeo poli(epsílon-caprolactona), poli(epsílon-caprolactona-CO-ácido lático), poli(epsílon-caprolactona-CO-ácido glicólico), poli(ß-ácido hidróxi butírico), óxido de polietileno, polietileno, poli(alquil-2-cianoacrilato), poli(hidroxietil metacrilato), poliamidas, poli(aminoácidos), poli(2-hidroxietil DL-aspartamida), poli(éster uréia), poli(L-fenilalanina/etileno glicol/1,6-diisocianatoexano) e poli(metacrilato de metila). Os polímeros particularmente preferidos são poliésteres, tais como o ácido poliglicólico, ácido poliláctico, glicolídeo-L(-) lactídeo poli(epsílon-caprolactona), poli(epsílon-caprolactona-CO-ácido lático) e poli(epsílon-caprolactone-CO-ácido glicólico). Os solventes úteis para dissolver o polímero e/ou o ativo incluem: água, hexafluoroisopropanol, metilenocloreto, tetraidrofurano, hexano, benzeno ou hexafluoroacetona sesquiidrato. O processo de dispersar a fase contendo ingrediente ativo com uma segunda fase pode incluir pressão que força dita primeira fase através de um orifício em um bocal para afetar a formação de gotícula.

As formulações de pó seco podem resultar de processos diferentes da liofilização, tais como a secagem por pulverização ou extração de solvente por evaporação ou por precipitação de uma composição cristalina seguida por uma ou mais etapas para remover o solvente não aquoso ou aquoso. A preparação de uma preparação de anticorpo secada por pulverização é ensinada na U.S. 6.019.968. As composições de pó seco com base em anticorpo podem ser produzidas por soluções ou pastas fluidas secadas por pulverização do anticorpo e, opcionalmente, excipientes, em um solvente sob condições de fornecer um pó seco respirável. Os solventes podem incluir compostos polares, tais como água e etanol, que podem ser facilmente secados. A estabilidade de anticorpos pode ser intensificada mediante a execução dos procedimentos de secagem por pulverização na ausência de oxigênio, tal como sob uma manta de

nitrogênio ou mediante o uso de nitrogênio como o gás de secagem. Uma outra formulação relativamente seca é uma dispersão de uma pluralidade de micro-estruturas perfurada dispersas em um meio de suspensão que tipicamente compreende um propulsor de hidrofluoroalcano como ensinado no WO 9916419. As dispersões estabilizadas podem ser administradas para o pulmão de um paciente usando um inalador de dose medida. Os equipamentos úteis na fabricação comercial de fármacos secados por pulverização são fabricados pela Buchi Ltd. ou Niro Corp.

Pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s nas formulações ou soluções estáveis ou conservadas aqui descritas, pode ser administrado a um paciente de acordo com a presente invenção através de uma variedade de métodos de liberação incluindo a injeção SC ou IM; transdérmica, pulmonar, transmucosal, implante, bomba osmótica, cartucho, microbomba, ou outros meios observados pelo artífice versado, também conhecidos na técnica.

Aplicações Terapêuticas

A presente invenção fornece também um método de modular ou tratar pelo menos uma doença relacionada com a IL-23, em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente, tal como é conhecido na técnica ou como aqui descrito, usandpelo menos um anticorpo de IL-23p19 da presente invenção, por exemplo, administração ou contato da célula, tecido, órgão, animal ou paciente com uma quantidade eficaz terapêutica de anticorpo de IL-23p19. A presente invenção também fornece um método para modular ou tratamentpelo menos uma doença relacionada com a IL-23, em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente incluindo, mas não limitado a elas, pelo menos uma de obesidade, uma doença relacionada imunológica, uma doença cardiovascular, uma doença infecciosa, uma doença maligna ou uma doença neurológica.

A presente invenção da mesma forma fornece um método para a modulação ou tratamento de pelo menos uma doença relacionada imunológica relacionada com a IL-23, em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente incluindo, mas não limitado a elas, pelo menos uma de artrite reumatóide, artrite reumatóide juvenil, artrite reumatóide juvenil de aparecimento sis-

têmico, artrite psoriática, espondilite anquilosante, úlcera gástrica, artropatias soronegativas, osteoartrite, osteólise, flexibilização asséptica dos implantes ortopédicos, doença inflamatória intestinal, colite ulcerosa, lúpus eritematoso sistêmico, síndrome antifosfolipídica, iridociclite/uveíte/neurite ótica, fibrose pulmonar idiopática, vasculite sistêmica/granulomatose de Wegener, sarcoidose, procedimentos de inversão de orquite/vasectomia, doenças alérgicas/atópicas, asma, rinite alérgica, eczema, dermatite de contato alérgica, conjuntivite alérgica, hipersensibilidade pneumonite, transplantes, rejeição de órgãos transplantados, doença de enxerto versus hospedeiro, síndrome da resposta inflamatória sistêmica, síndrome de sepsia, sepsia gram-positivas, sepsia gram-negativa, sepsia negativa de cultura, sepsia fúngica, febre neutropênica, urosepsia, meningococcemia, trauma/hemorragia, queimaduras, exposição às radiações ionizantes, pancreatite aguda, síndrome da angústia respiratória do adulto, artrite reumatóide, hepatite induzida por álcool, patologias inflamatórias crônicas, sarcoidose, patologia de Crohn, anemia falciforme, diabetes, nefrose, doenças atópicas, reações de hipersensibilidade, rinite alérgica, febre do feno, rinite perene, conjuntivite, endometriose, asma, urticária, anafalaxia sistêmica, dermatite, anemia perniciosa, doença hemolítica, trombocitopenia, rejeição de enxerto de qualquer órgão ou tecido, rejeição de transplante de rim, rejeição de transplante cardíaco, rejeição de transplante do fígado, rejeição de transplante do pâncreas, rejeição de transplante do pulmão, rejeição de transplante da medula óssea (BMT), rejeição de aloenxerto da pele, rejeição de transplante da cartilagem, rejeição de enxerto ósseo, rejeição de transplante do intestino delgado, rejeição de implante do timo fetal, rejeição de transplante da paratireóide, rejeição de xenoexerto de qualquer órgão ou tecido, rejeição de aloenxerto, reações de hipersensibilidade anti-receptora, doença de Graves, doença de Raynaud, diabetes resistente a insulina tipo B, asma, miastenia grave, citotoxicidade meditada por anticorpo, reações de hipersensibilidade tipo III, síndrome POEMS (polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, gamopatia monoclonal, e síndrome de alterações da pele), polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, gamopatia monoclonal, síndrome de alterações cutâ-

neas, síndrome antifosfolipídica, pênfigo, esclerodermia, doença do tecido conectivo misturado, doença de Addison idiopática, diabetes melito, hepatite ativa crônica, cirrose biliar primária, vitiligo, vasculite, síndrome pós-MI cardiotomia, hipersensibilidade do tipo IV, dermatite de contato, hipersensibilidade pneumonite, rejeição de aloenxerto, granulomas devido aos organismos intracelulares, sensibilidade a fármaco, doença de Wilson metabólica/idiopática, hemacromatose, deficiência de alfa-1-antitripsina, retinopatia diabética, tiroidite de Hashimoto, osteoporose, avaliação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, cirrose biliar primária, tireoidite, encefalomielite, caquexia, fibrose cística, doença pulmonar crônica neonatal, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), linfoistiocitose hematofagocítica familiar, condições dermatológicas, psoríase, alopecia, síndrome nefrótica, nefrite, nefrite glomerular, insuficiência renal aguda, hemodiálise, uremia, toxicidade, pré-eclampsia, terapia okt3, terapia anti-cd3, terapia de citocina, quimioterapia, radioterapia (por exemplo, incluindo, mas não limitado a estes, astenia, anemia, caquexia, e similares), intoxicação crônica por salicilato, e outros mais. Vide, por exemplo, o Merck Manual, 12th-17th Editions, Merck & Company, Rahway, NJ (1972, 1977, 1982, 1987, 1992, 1999), Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., eds., Second Edition, Appleton and Lange, Stamford, Conn. (1998, 2000), cada um totalmente incorporado por referência.

A presente invenção também fornece um método para a modulação ou tratamento de pelo menos uma doença cardiovascular em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente, incluindo, mas não limitado a estes, pelo menos um de síndrome imobilizadora cardíaca, enfarte do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, acidente vascular cerebral, acidente vascular cerebral isquêmico, hemorragia, síndrome coronariana aguda, arteriosclerose, aterosclerose, restenose, doença ateriosclerótica diabética, hipertensão, hipertensão arterial, hipertensão renovascular, síncope, choque, sífilis do sistema cardiovascular, insuficiência cardíaca, cor pulmonale, hipertensão pulmonar primária, arritmia cardíaca, batimentos ectópicos atriais, taquicardia atrial, fibrilação atrial (sustentada ou paroxística), síndrome pós-perfusão, resposta de inflamação da cirurgia de revascularização cardiopul-

monar, taquicardia atrial caótica ou multifocal, taquicardia QRS limitada regular, arritmias específicas, fibrilação ventricular, arritmias fusiformes His, bloqueio atrioventricular, bloco de ramificação fusiforme, distúrbios isquêmicos do miocárdio, doença arterial coronariana, angina de peito, enfarte do miocárdio, cardiomiopatia, cardiomiopatia congestiva dilatada, cardiomiopatia restritiva, doenças cardíacas valvulares, endocardite, doença pericárdica, tumores cardíacos, aneurismas aórticos e periféricos, dissecção aórtica, inflamação da aorta, oclusão da aorta abdominal e seus ramos, distúrbios vasculares periféricos, distúrbios arteriais oclusivos, doença aterosclerótica periférica, tromboangeíte obliterante, distúrbios arteriais periféricos funcionais, fenômeno e doença de Raynaud, acrocianose, eritromelalgia, doenças venosas, trombose venosa, veias varicosas, fístula arteriovenosa, linfoderma, lipedema, angina instável, lesão por reperfusão, síndrome pós-bomba, lesão por isquemia e reperfusão, e outras mais. Um tal método pode opcionalmente compreender a administração de uma quantidade de uma composição ou composição farmacêutica que compreende pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s para uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente com necessidade de tal modulação, tratamento ou terapia.

A presente invenção da mesma forma fornece um método para a modulação ou tratamento de pelo menos uma doença infecciosa relacionada com a IL-23 em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente, incluindo, mas não limitado a estas, pelo menos uma de: infecção bacteriana aguda ou crônica, processos infecciosos ou parasíticos agudos e crônicos, incluindo infecções bacterianas, virais e fúngicas, infecção pelo HIV/neuropatia do HIV, meningite, hepatite (por exemplo, A, B ou C, ou similar), artrite séptica, peritonite, pneumonia, epiglotite, e. coli 0157:h7, síndrome urêmica hemolítica/púrpura trombocitopênica trombolítica, malária, febre hemorrágica da dengue, leishmaniose, hanseníase, síndrome de choque tóxico, miosite estreptocócica, gangrena gasosa, tuberculose por micobactéria, mycobacterium avium intracellulare, pneumonia pneumocystis carinii, doença inflamatória pélvica, orquite/epididimite, legionelose, doença de lyme, gripe, vírus Epstein-Barr, síndrome hemafagocítica associada com vírus, meningite encefáli-

ca/asséptica viral, e outras mais.

A presente invenção fornece também um método para a modulação ou tratamento de pelo menos uma doença maligna relacionada com a IL-23 em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente, incluindo, mas não limitado a estas, pelo menos uma de: leucemia, leucemia aguda, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia linfocítica aguda, ALL de células B, de células T ou FAB, leucemia mielóide aguda (AML), leucemia mielogênica aguda, leucemia mielocítica crônica (CML), leucemia linfocítica crônica (CLL), leucemia de células pilosas, síndrome mielodiplástica (MDS), um linfoma, doença de Hodgkin, um linfoma maligno, linfoma não Hodgkin, linfoma de Burkitt, mieloma múltiplo, sarcoma de Kaposi, carcinoma colorretal, carcinoma pancreático, carcinoma nasofaríngeo, histiocitose maligna, síndrome paraneoplásica/hipercalcemia de malignidade, tumores sólidos, câncer da bexiga, câncer da mama, câncer colorretal, câncer endometrial, câncer da cabeça, câncer do pescoço, câncer hereditário não polipose, linfoma de Hodgkin, câncer do fígado, câncer do pulmão do pulmão de células não pequenas, câncer do ovário, câncer do pâncreas, câncer da próstata, carcinoma de células renais, câncer testicular, adenocarcinomas, sarcomas, melanoma maligno, hemangioma, doença metastática, câncer relacionado com a reabsorção óssea, câncer relacionado com a dor óssea, e outros mais.

A presente invenção também fornece um método para a modulação ou tratamento de pelo menos uma doença neurológica relacionada com a IL-23 em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente, incluindo, mas não limitado a esta, pelo menos uma de: doenças neurodegenerativas, esclerose múltipla, enxaqueca, complexo de demência da AIDS, doenças desmielinizantes, tais como a esclerose múltipla e mielite transversa aguda; transtornos extrapiramidais e cerebelares, tais como lesões do sistema corticoespinhal; distúrbios dos gânglios basais; distúrbios do movimento hipercinético, tais como coréia de Huntington e coréia senil; distúrbios de movimento induzidos por fármaco, tais como aqueles induzidos por fármacos que bloqueiam os receptores dopaminérgicos do CNS; distúrbios do movimento hipocinético, tais como a mal-de-Parkinson; paralisia supranuclear progressiva; lesões estruturais do cerebelo;

degenerações espinocerebelar, tais como ataxia espinhal, ataxia de Friedreich, degenerações corticais cerebelares, degenerações de múltiplos sistemas (Mencel, Dejerine-Thomas, Shi-Drager, e Machado-Joseph); distúrbios sistêmicos (doença de Refsum, abetalipoprotemia, ataxia, telangiectasia, e distúrbio de múltiplos sistemas mitocondrial); distúrbios de núcleo desmielinizante, tais como a esclerose múltipla, mielite transversal aguda; e distúrbios do aparelho motor, tais como atrofias musculares neurogênicas (degeneração das células do corno anteriores, tais como a esclerose lateral amiotrófica, atrofia muscular espinhal infantil e atrofia muscular espinhal juvenil); mal de Alzheimer; síndrome de Down na meia-idade; doença do corpo de Lewy difusa; demência senil do tipo corpo de Lewy; síndrome de Wernicke-Korsakoff; alcoolismo crônico, doença de Creutzfeldt-Jakob; panencefalite esclerosante subaguda, doença de Hallerrorden-Spatz; demência pugilística; lesão neurotraumática (por exemplo, lesão medular, lesão cerebral, concussão, concussão repetitiva); dor; dor inflamatória; autismo; depressão; acidente vascular cerebral, distúrbios cognitivos; epilepsia, e outros mais. Um tal método pode opcionalmente compreender a administração de uma quantidade eficaz de uma composição ou composição farmacêutica compreendendpelo menos um anticorpo de TNF ou parte ou variante específica de uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente com necessidade de tal modulação, tratamento ou terapia. Vide, por exemplo, o Merck Manual, 16$^{th}$ Edition, Merck & Company, Rahway, NJ (1992).

A presente invenção também fornece um método para a modulação ou tratamento de pelo menos um ferimento, traumatismo ou lesão tecidual relacionado com a IL-23, ou condição crônica relacionada, em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente, incluindo, mas não limitado a estes, pelo menos um de: lesão corporal ou um traumatismo associado com cirurgia oral incluindo cirurgia periodontal, extração(ões) dentária(s), tratamento endodôntico, inserção de implantes dentários, aplicação e uso de prótese dentária; ou em que o ferimento é selecionada do grupo consistindo em ferimentos assépticos, ferimentos de contusão, ferimentos de incisão, ferimentos dilacerados, ferimentos não penetrantes, ferimentos abertos, ferimentos penetrantes, ferimentos perfurantes, ferimentos de punctura, feri-

mentos sépticos, ferimentos de infartos e subcutâneos; ou em que o ferimentos é selecionada do grupo consistindo em úlceras isquêmicas, feridas de pressão, fístulas, mordidas graves, queimaduras térmicas e ferimentos locais de doador; ou em que o ferimento é um ferimento aftoso, um ferimento traumático ou um ferida associada com herpes.

Os ferimentos e/ou úlceras são normalmente observados projetando-se sobre a pele ou sobre uma superfície mucosa ou como um resultado de um infarto em um órgão ("acidente vascular cerebral"). Um ferimento pode ser um resultado de um defeito do tecido macio ou uma lesão ou de uma condição subjacente. No presente contexto, o termo "pele" refere-se à superfície exterior do corpo de um animal, incluindo um ser humano, e abrange a pele intacta ou quase intacta, assim como uma superfície da pele lesada. O termo "mucosa" refere-se à mucosa não danificada ou danificada de um animal, tal como um ser humano, e pode ser a mucosa oral, bucal, auricular, nasal, pulmonar, ocular, gastrointestinal, vaginal ou retal.

No presente contexto, o termo "ferimento" significa uma lesão corporal com a ruptura da integridade normal das estruturas do tecido. O termo também destinado a abranger os termos "ferida", "lesão", "necrose" e "úlcera". Normalmente, o termo "ferida" é um termo popular para quase todas as lesões da pele ou membranas mucosas e o termo "úlcera" é um defeito local, ou escavação, da superfície de um órgão ou tecido, que é produzido pela escara de tecido necrótico. A lesão geralmente diz respeito a qualquer defeito do tecido. A necrose está relacionada com o tecido morto resultante de infecção, lesão, inflamação ou infartos.

O termo "ferimento" utilizado no presente contexto significa qualquer ferimento (veja abaixo para uma classificação de ferimentos) e em qualquer estágio particular no processo de cicatrização, incluindo o estágio antes de qualquer cicatrização tendo iniciada ou mesmo antes que um ferimento específico como uma incisão cirúrgica seja feita (tratamento profilático). Exemplos de ferimentos que podem ser prevenidos e/ou tratados de acordo com a presente invenção são, por exemplo, ferimentos assépticos, ferimentos de contusão, ferimentos por incisão, ferimentos dilacerados, feri-

mentos não penetrante (isto é, ferimentos em que não existe nenhuma ruptura da pele, mas há prejuízo para as estruturas subjacentes), ferimentos abertos, ferimentos penetrantes, ferimentos perfurantes, ferimentos de punctura, ferimentos sépticos, ferimentos subcutâneos, etc. Exemplos de feridas são úlceras do leito, estomatites, úlceras de cromo, herpes simples, ulceras de pressão, etc. Exemplos de úlceras são, por exemplo, uma úlcera péptica, úlcera duodenal, úlcera gástrica, úlcera gotosa, úlcera diabética, úlcera isquêmica hipertensiva, úlcera de estase, úlcera da perna (úlcera venosa), úlcera sublingual, úlcera submucosa, úlcera sintomática, úlcera trófica, úlcera tropical, e úlcera venérea, por exemplo, causada por gonorréia (incluindo uretrite, endocervicite e proctite). Condições relacionadas com ferimentos ou feridas que podem ser tratadas com sucesso de acordo com a invenção são queimaduras, carbúnculo, tétano, gangrena gasosa, escarlatina, erisipela, barba sicose, foliculite, impetigo contagioso, ou impetigo bolhoso, etc. Há muitas vezes uma certa sobreposição entre o uso dos termos "ferimento" e "úlcera" e "ferimento" e "ferida" e, além disso, os termos são freqüentemente usados de forma aleatória. Portanto, como mencionado acima, no presente contexto o termo "ferimento" engloba os termos "úlcera", "lesão", "ferida" e "infarto", e os termos são usados indiscriminadamente a não ser que de outra maneira indicado.

As espécies de ferimentos a serem tratadas de acordo com a invenção incluem também (i) ferimentos gerais, tais como, por exemplo, ferimentos cirúrgicos, traumáticos, infecciosos, isquêmicos, térmicos, químicos e bolhosos, (ii) ferimentos específicos para a cavidade oral, tais como, por exemplo, ferimentos pós-extração, ferimentos endodonticos especialmente em conexão com o tratamento de quistos e abscessos, úlceras e lesões de origem bacteriana, viral ou auto-imunológica, ferimentos mecânicos, químicos, térmicos, infecciosos e liquenóides; úlceras herpes, estomatite aftosa, gengivite ulcerativa aguda necrosante e síndrome da boca queimando são exemplos específicos, e (iii) ferimentos sobre a pele, tais como, por exemplo, neoplasias, queimaduras (por exemplo, químicas, térmicas), lesões (bacterianas, virais, autoimunologicas), mordidas e incisões cirúrgicas. Uma outra

forma de classificar os ferimentos é como (i) perda do tecido secundário devido às incisões cirúrgicas, abrasões menores e mordidas menores, ou como (ii) perda significativa do tecido. O último grupo inclui úlceras isquêmicas, úlceras de pressão, fístulas, lacerações, mordidas graves, queimaduras térmicas e ferimentos locais de doadores (em tecidos macios e rijos) e infartos.

Outros ferimentos que são de importância no contexto com a presente invenção são ferimentos semelhantes a úlceras isquêmicas, úlceras de pressão, fístulas, mordidas grave, queimaduras térmicas e ferimentos locais de doadores. As úlceras isquêmicas e úlceras de pressão são ferimentos que normalmente só cicatrizam muito lentamente e especialmente em tais casos, um processo de cicatrização melhorado e mais rápido é obviamente de grande importância para o paciente. Além disso, os custos envolvidos no tratamento de pacientes que sofrem de tais ferimentos são marcantemente reduzidos quando a cicatrização é melhorada e ocorre mais rapidamente.

Os ferimentos locais de doador são ferimentos que, por exemplo, ocorrem em conexão com a remoção de tecido rijo de uma parte do corpo para outra parte do corpo, por exemplo, em conexão com transplante. Os ferimentos resultantes de tais operações são muito dolorosos e uma cicatrização melhorada é mais valiosa. O termo "pele" é usado em um sentido muito amplo que abrange a camada epidérmica da pele e - naqueles casos onde a superfície da pele é mais ou menos ferida - também a camada dérmica da pele. À parte do estrato córneo, a camada epidérmica da pele é a camada exterior (epitelial) e a camada do tecido conectivo mais profundo da pele é chamada a derme.

A presente invenção fornece também um método para a modulação ou tratamento de psoríase, artrite psoriática, doença de Crohn, esclerose múltipla e neurite ótica, entre as outras doenças acima listadas quando relacionadas com a IL-23, em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente, incluindo, mas não limitado a estas, pelo menos uma de doença relacionada com a imunodeficiência, doença cardiovascular, doença infecciosa, maligna e/ou neurológica. Um tal método pode opcionalmente compreender a administração de uma quantidade eficaz de pelo menos uma composição ou

composição farmacêutica compreendendpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s à uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente com necessidade de tal modulação, tratamento ou terapia.

Qualquer método da presente invenção pode compreender a administração de uma quantidade eficaz de uma composição ou composição farmacêutica compreendendpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s à uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente com necessidade de tal modulação, tratamento ou terapia. Um tal método pode ainda opcionalmente compreender a co-administração ou a terapia de combinação para o tratamento de tais doenças ou distúrbios, em que a administração de ditpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, parte específica ou variante deste, ainda compreende a administração, antes, concomitantemente e/ou após, de pelo menos um selecionado de pelo menos um antagonista de TNF (por exemplo, mas não limitado a estes, um antagonista químico ou de proteína TNF, anticorpo ou fragmento monoclonal ou policlonal de TNF, um receptor de TNF solúvel (por exemplo, p55, p70 ou P85) ou fragmento, polipeptídeos fusão destes, ou uma antagonista de TNF de molécula pequena, por exemplo, proteína de ligação a TNF I ou II (TBP-1 ou TBP-II), nerelimonmab, infliximab, etanercept (Enbrel™), adalimulab (Humira®), CDP-571, CDP-870, afelimomab, lenercept, e outros mais), um antirreumático (por exemplo, metotrexato, auranofin, aurotioglicose, azatioprina, tiomalato sódico de ouro, sulfato de hidroxicloroquina, leflunomida, sulfasalzina), um relaxante muscular, um narcótico, um fármaco anti-inflamatório não esteróide (NSAID), um analgésico, um anestésico, um sedativo, um anestésico local, um bloqueador neuromuscular, um antimicrobiano (por exemplo, aminoglicosídeos, um antifúngico, um antiparasitário, um antiviral, um carbapenem, cefalosporina, uma fluoroquinolona, um macrólido, uma penicilina, uma sulfonamida, uma tetraciclina, um outro antimicrobiano), um antipsoriático, um corticosteróide, um esteróide anabólico, um agente relacionado com diabetes, um mineral, uma nutricional, um agente da tiróide, uma vitamina, um hormônio relacionado com cálcio, um anti-diarréico, um antitussivo, um antiemético, uma antiúlcera, um laxante, um anticoagulante, uma eritropoietina (por exemplo, epoetina-alfa),

um filgrastim (por exemplo, G-CSF, Neupogen), um sargramostim (GM-CSF, Leucina), uma imunização, uma imunoglobulina, um imunossupressor (por exemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), uma hormônio do crescimento, um fármaco de reposição hormonal, um modulador do receptor estrogênio, um midriático, um cicloplégico, um agente de alquilação, um antimetabólito, um inibidor mitótico, um radiofármaco, um antidepressivo, agente antimaníaco, um antipsicótico, um ansiolítico, um hipnótico, um simpaticomimético, um estimulante, donepezil, tacrina, uma medicação contra asma, um beta-agonista, um esteróide inalado, um inibidor de leucotrieno, uma metilxantina, uma cromolina, uma epinefrina ou análogo, dornase-alfa (Pulmozyme), uma citocina ou um antagonista de citocina. As dosagens adequadas são bem-conhecidas na técnica. Vide, por exemplo, Wells et al., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000); Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ, cada uma destas referências são inteiramente incorporadas neste documento por referência.

Os antagonistas TNF adequados para as composições, terapia de combinação, co-administração, dispositivos e/ou métodos da presente invenção (ainda compreendendpelo menos mais um anticorpo, parte especificada e a variante destes, da presente invenção), incluem, mas não são limitados a eles, anticorpos anti-TNF (por exemplo, pelo menos um antagonista de TNF como definido acima), seus fragmentos de ligação ao antígeno, e moléculas receptoras que se ligam especificamente ao TNF; compostos que impedem e/ou inibem síntese de TNF, liberação de TNF ou a sua ação nas células-alvo, tais como talidomida, tenidap, inibidores da fosfodiesterase (por exemplo, pentoxifilina e rolipram), agonistas do receptor de A2b adenosina e intensificadores do receptor de A2b adenosina; compostos que impedem e/ou inibem a sinalização do receptor de TNF, tal como inibidores proteína cinase ativada por mitógeno (MAP); compostos que bloqueiam e/ou inibem a

clivagem da membrana do TNF, tais como inibidores da metaloproteinase; compostos que bloqueiam e/ou inibem a atividade do TNF, tais como os inibidores da enzima de conversão da angiotensina (ACE) (por exemplo, captopril) e compostos que bloqueiam e/ou inibem a produção e/ou de síntese do TNF, tais como inibidores da MAP cinase.

Como aqui usado, um "anticorpo do fator de necrose tumoral", "anticorpo do TNF", "anticorpo do TNFα", ou fragmento e outros mais diminui, bloqueia, inibe, revoga ou interfere com a atividade de TNFα *in vitro, in situi* e/ou, preferivelmente, *in vivo*. Por exemplo, um anticorpo humano do TNF adequado da presente invenção pode ser ligar ao TNFα e inclui anticorpos anti-TNF, fragmentos de ligação ao antígeno destes, e seus mutantes e domínios específicos que se ligam especificamente ao TNFα. Um anticorpo ou fragmento do TNF adequado pode também diminuir, bloquear, revogar, interferir, prevenir e/ou inibir a síntese de RNA, DNA ou proteína do TNF, liberação de TNF, sinalização do receptor de TNF, clivagem do TNF na membrana, atividade do TNF, produção e/ou síntese de TNF.

Um exemplo de um anticorpo ou antagonista de TNF é o anticorpo quimérico cA2. Exemplos Adicional de anticorpos monoclonais anti-TNF que podem ser utilizados na presente invenção são descritos na técnica (vide, por exemplo, Patente U.S. nº 5.231.024; Möller, A. et al., Cytokine 2(3):162-169 ( 1990); Pedido U.S. nº 07/943.852 (depositado em 11 de setembro de 1992); Rathjen et al., Publicação Internacional No. WO 91/02078 (publicada 21 de fevereiro de 1991); Rubin et al., Publicação de Patente EPO Nº 0 218 868 (publicada 22 de abril de 1987); Yone et al., Publicação de Patente EPO Nº 0 288 088 (26 de outubro de 1988); Liang, et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 137:847-854 (1986); Meager, et al., Hybridoma 6:305-311 (1987); Fendly et al., Hybridoma 6:359-369 (1987); Bringman, et al., Hybridoma 6:489-507 (1987); e Hirai, et al., J. Immunol. Meth. 96:57-62 (1987).

Moléculas Receptoras do TNF

As moléculas receptoras do TNF preferidas úteis na presente invenção são aquelas que se ligam ao TNFα com alta afinidade (vide, por exemplo, Feldmann et al., Publicação Internacional No. WO 92/07076 (publi-

cada em 30 de abril de 1992); Schall et al., Cell 61:361-370 (1990); e Loetscher et al., Cell 61:351-359 (1990), cujas referências são aqui inteiramente incorporadas referência) e opcionalmente possuem baixa imunogenicidade. Em particular, os receptores da superfície celular do TNF 55 kDa (p55 TNF-R) e 75 kDa (p75 TNF-R) TNF são úteis na presente invenção. As formas truncadas destes receptores, compreendendo os domínios extracelulares (ECD) dos receptores ou suas partes funcionais (vide, por exemplo, Corcoran et al., Eur. J. Biochem. 223:831-840 (1994)), também são úteis na presente invenção. As formas truncadas dos receptores do TNF, compreendendo os DCE, foram detectadas na urina e soro como proteínas de ligação inibidoras do TNFα de 30 kDa e 40 kDa (Engelmann, H. et al., J. Biol. Chem. 265:1531-1536 (1990)). As moléculas multiméricas do receptor de TNF e as moléculas de fusão imunorreceptoras do TNF, e derivados e fragmentos ou partes destes, são exemplos adicionais das moléculas receptoras do TNF que são úteis nos métodos e composições da presente invenção.

As moléculas multiméricas do receptor de TNF na presente invenção compreendem todo ou uma parte funcional do ECD de dois ou mais receptores do TNF ligados através de um ou mais ligadores de polipeptídeo ou outros ligadores não peptídeos, tais como o polietileno glicol (PEG). Um exemplo de um tal tipo de molécula de fusão imunorreceptora é o receptor de TNF/proteína de fusão IgG. As moléculas de fusão de imunorreceptor do TNF e métodos para a sua produção foram descritos na técnica (Lesslauer et al., Eur. J. Immunol. 21:2883-2886 (1991); Ashkenazi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539 (1991); Peppel et al., J. Exp. Med. 174:1483-1489 (1991); Kolls et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:215-219 (1994); Butler et al., Cytokine 6(6):616-623 (1994); Baker et al., Eur. J. Immunol. 24:2040-2048 (1994); Beutler et al., Patente U.S. nº 5.447.851; e Pedido U.S. No. 08/442.133 (depositado em 16 de maio de 1995), cada uma destas referências são aqui inteiramente incorporadas por referência. Os métodos para a produção de moléculas de fusão imunorreceptoras podem também ser observados em Capon et al., Patente U.S. nº 5.116.964; Capon et al., Patente U.S. nº 5.225.538; e Capon et al., Nature 337:525-531 (1989),

cujas referências são aqui inteiramente incorporadas por referência.

As citocinas incluem qualquer citocina conhecida. Vide, por exemplo, CopewithCytokines.com. Os antagonistas de citocina incluem, mas não são limitados a estes, qualquer anticorpo, fragmento ou mimético, qualquer receptor solúvel, fragmento ou mimético, qualquer antagonista de molécula pequena, ou qualquer combinação destes.

Tratamentos Terapêuticos

Qualquer método da presente invenção pode compreender um método para tratar um distúrbio mediado pela IL-23, que compreende uma quantidade eficaz de uma composição ou composição farmacêutica compreendendpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s em uma célula, tecido, órgão, animal ou paciente com necessidade de tal modulação, tratamento ou terapia. Um tal método pode opcionalmente ainda compreender a co-administração ou terapia de combinação para o tratamento de tais doenças ou distúrbios, em que a administração de ditpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19, parte específica ou variante deste, ainda compreende a administração antes, concomitantemente e/ou após pelo menos um selecionado de um fármaco antiinfeccioso, um fármaco do sistema cardiovascular (CV), um fármaco do sistema nervoso central (CNS), um fármaco do sistema nervoso autônomo (ANS), um fármaco do trato respiratório, um fármaco do trato gastrointestinal (GI), um fármaco hormonal, um fármaco para o equilíbrio de fluido ou eletrólito, um fármaco hematológico, um antineoplástico, um fármaco para a imunomodulação, um fármaco oftálmico, ótico ou nasal, um fármaco tópico, um fármaco nutricional ou similar, pelo menos um antagonista do TNF (por exemplo, mas não limitado a um anticorpo ou fragmento do TNF, um receptor ou fragmento de TNF solúvel, proteínas de fusão destes, ou um antagonista de TNF de molécula pequena), um antirreumático (por exemplo, metotrexato, auranofin, aurotioglicose, azatioprina, etanercept, tiomalato sódico de ouro, sulfato de hidroxicloroquina, leflunomida, sulfasalzina), um relaxante muscular, um narcótico, um fármaco anti-inflamatório não esteróide (NSAID), um analgésico, um anestésico, um sedativo, um anestésico local, um bloqueador neuromuscular, um antimicrobiano (por exemplo, aminoglico-

sídeos, um antifúngico, um antiparasitário, um antiviral, um carbapenem, cefalosporina, uma fluoroquinolona, um macrólido, uma penicilina, uma sulfonamida, uma tetraciclina, um outro antimicrobiano), um antipsoriático, um corticosteróide, um esteróide anabólico, um agente relacionado com diabetes, um mineral, uma nutricional, um agente da tiróide, uma vitamina, um hormônio relacionado com cálcio, um anti-diarréico, um antitussivo, um antiemético, uma antiúlcera, um laxante, um anticoagulante, uma eritropoietina (por exemplo, epoetina-alfa), um filgrastim (por exemplo, G-CSF, Neupogen), um sargramostim (GM-CSF, Leucina), uma imunização, uma imunoglobulina, um imunossupressor (por exemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), uma hormônio do crescimento, um fármaco de reposição hormonal, um modulador do receptor estrogênio, um midriático, um cicloplégico, um agente de alquilação, um anti-metabólito, um inibidor mitótico, um radiofármaco, um antidepressivo, agente antimaníaco, um antipsicótico, um ansiolítico, um hipnótico, um simpaticomimético, um estimulante, donepezil, tacrina, uma medicação contra asma, um beta-agonista, um esteróide inalado, um inibidor de leucotrieno, uma metilxantina, uma cromolina, uma epinefrina ou análogo, dornase-alfa (Pulmozyme), uma citocina ou um antagonista de citocina. Tais fármacos são bem-conhecidos na técnica, incluindo as formulações, indicações, dosagem e administração de cada um aqui apresentado (vide, por exemplo, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ; Pharmcotherapy Handbook, Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT, cada um aqui inteiramente incorporado por referência).

Tipicamente, o tratamento das condições patológicas é efetuada mediante a administração de uma quantidade ou dosagem eficaz de pelo menos uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 em que o total, na média, um faixa de pelo menos cerca de 0,01 a 500 miligramas de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 por quilograma do paciente per dose, e, de preferência, de pelo menos cerca de 0,1 a 100 miligramas anticorpo/quilograma do paciente por administração única ou múltipla, dependendo da atividade específica do

agente ativo contido na composição. Alternativamente, a concentração no soro efetiva pode compreender de 0,1 a 5000 µg/ml de concentração no soro por administração única ou múltipla. As dosagens adequadas são conhecidas pelos médicos, obviamente, dependerão do estado doentio particular, da atividade específica da composição sendo administrada, e do paciente particular que passa pelo tratamento. Em alguns exemplos, para atingir a quantidade terapêutica desejada, pode ser necessário fornecer administração repetida, isto é, administrações individuais repetidas de uma dose monitorada ou medida particular, onde as administrações individuais são repetidas até que a dose diária desejada ou efeito seja alcançado.

As doses preferidas podem opcionalmente incluir cerca de 0,1 a 99 e/ou de 100 a 500 mg/kg/administração, ou qualquer faixa, valor ou fração destas, ou para alcançar uma concentração no soro de cerca de 0,1 a 5000 µg/ml de concentração no soro per administração única ou múltipla, ou qualquer faixa, valor ou fração destas. Uma faixa de dosagem preferida para o anticorpo anti-IL-23p19s da presente invenção é de cerca de 1 mg/kg, até cerca de 3, cerca de 6 ou cerca de 12 mg/kg de peso corporal do paciente.

Alternativamente, a dosagem administrada pode variar dependendo dos fatores conhecidos, tais como as características farmacodinâmicas do agente particular, e seu modo e via de administração; idade, saúde, e peso do recebedor; natureza e extensão dos sintomas, espécie do tratamento concomitante, freqüência de tratamento, e o efeito desejado. Geralmente uma dosagem de ingrediente ativo pode ser de cerca de 0,1 a 100 miligramas por quilograma de peso corporal. Geralmente de 0,1 a 50, e, preferivelmente, de 0,1 a 10 miligramas por quilograma por administração na forma de liberação controlada são eficazes para obter os resultados desejados.

Como um exemplo não limitativo, o tratamento de seres humanos ou animais pode ser fornecido como uma dosagem única ou periódica de pelo menos um anticorpo da presente invenção de cerca de 0,1 a 100 mg/kg ou qualquer faixa, valor ou fração deste por dia, em pelo menos um de 1 a 40 dias, ou, alternativa ou adicionalmente, pelo menos uma de 1 a 52 semanas, ou, alternativa ou adicionalmente, pelo menos um de 1 a 20 anos, ou qualquer com-

binação destes, utilizando doses únicas, de infusão ou repetidas.

As formas de dosagem (composição) adequadas para administração interna geralmente contêm cerca de 0,001 miligrama a cerca de 500 miligramas de ingrediente ativo por unidade ou recipiente. Nestas composições farmacêuticas o ingrediente ativo geralmente estará presente em uma quantidade de cerca de 0,5 a 99,999% em peso com base no peso total da composição.

Para a administração parenteral, o anticorpo pode ser formulado como uma solução, suspensão, emulsão, partícula, pó ou pó liofilizado em associação, ou separadamente fornecido, com um veículo parenteral farmaceuticamente aceitável. Exemplos de tais veículos são água, soro fisiológico, solução de Ringer, solução de dextrose, e cerca de 1 a 10% de albumina no soro humana. Lipossomas e veículos não aquosos, tais como óleos fixos, também podem ser usados. O veículo ou pó liofilizado pode conter aditivos que mantêm a isotonicidade (por exemplo, cloreto de sódio, manitol) e estabilidade química (por exemplo, tampões e conservantes). A formulação é esterilizada por técnicas conhecidas ou adequadas.

Os veículos farmacêuticos adequados são descritos na edição mais recente da Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, um texto-padrão de referência neste campo.

Administração Alternativa

Muitos modos conhecidos e desenvolvidos podem ser usados de acordo com a presente invenção para a administração de quantidades farmaceuticamente eficazes de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 de acordo com a presente invenção. Embora a administração pulmonar seja utilizada na seguinte descrição, outros modos de administração pode ser utilizados de acordo com a presente invenção, com resultados adequados. Os anticorpos de IL-23p19 da presente invenção podem ser liberados em um veículo, como uma solução, emulsão, colóide ou suspensão, ou como um pó seco, usando qualquer uma de uma variedade de dispositivos e métodos adequados para a administração por inalação ou outros modos aqui descritos dentro ou conhecidos na técnica.

Formulações Parenterais e Administração

As formulações para administração parenteral podem conter como excipientes comuns água ou soro fisiológico estéril, polialquileno glicol, tal como o polietileno glicol, óleos de origem vegetal, naftalenos hidrogenados e similares. As suspensões aquosas ou oleosas para injeção podem ser preparadas mediante a utilização de um emulsificante ou umificante apropriado e um agente de suspensão, de acordo com os métodos conhecidos. Os agentes para a injeção podem ser um agente de diluição não tóxico e não oralmente administrável, tal como solução aquosa, uma solução ou suspensão injetável estéril em um solvente. Como o veículo ou solvente usável, água, solução Ringer, salina isotônica, etc. são permitidos; como um solvente ou solvente de suspensão usual, óleo não volátil estéril pode ser usado. Para estes propósitos, qualquer espécie de óleo não volátil e ácido graxo pode ser usado, incluindo os óleos graxos ou ácidos graxos naturais ou sintéticos ou semi-sintéticos; mono- di- ou triglicerídeos naturais ou sintéticos ou semi-sintéticos. A administração parental é conhecida na técnica e inclui, mas não é limitado a estes, meios convencionais de injeções, um dispositivo de injeção sem agulha de gás pressurizado, tal como descrito na Patente U.S. nº 5.851.198, e um dispositivo perfurador a laser como descrito na Patente U.S. nº 5.839.446 totalmente incorporadas neste documento por referência.

Liberação Alternativa

A invenção ainda refere-se à administração de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 por meio parenteral, subcutâneo, intramuscular, intravenosa, intrarticular, intrabronquial, intra-abdominal, intracapsular, intracartilagem, intracavitário, intracelial, intracerebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intraepático, intramiocárdico, intraosteal, intrapélvico, intrapericardíaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarretal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinhal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, de bolo, vaginal, retal, bucal, sublingual, intranasal, ou transdérmico. Pelo menos uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 pode ser preparada para utilização parenteral (subcutânea, intramuscular ou intravenosa) ou qualquer outra administração particularmente na forma

de soluções ou suspensões líquidas; para uso na administração vaginal ou retal particularmente nas formas semi-sólidas, tais como, mas não limitado a eles, cremes e supositórios; para administração bucal ou sublingual, tal como, mas não limitado a èstas, na forma de comprimidos ou cápsulas; ou intranasalmente, tal como, mas não limitado a estas, na forma de pós, gotas nasais ou aerossóis ou certos agentes; ou transdermicamente, tal como, mas não limitado a um gel, pomada, loção, suspensão ou sistema de liberação de emplastro com intensificadores químicos tais como sulfóxido de dimetila para modificar a estrutura da pele ou para aumentar a concentração de fármaco emplastro transdérmico (Junginger, et al. In "Drug Permeation Enhancement;" Hsieh, D. S., Eds., pp. 59-90 (Marcel Dekker, Inc. New York 1994, totalmente incorporado neste documento por referência), ou com agentes oxidantes que facilitam a aplicação de formulações contendo proteínas e peptídeos na pele (WO 98/53847), ou aplicações de campos elétricos para criar vias de transportes transitórios, tais como eletroporação, ou para aumentar a mobilidade dos fármacos carregados através da pele, tais como iontoforese, ou aplicação de ultra-som, tal como sonoforese (Patentes U.S. nºs 4.309.989 e 4.767.402) (cujas publicações e patentes acima sendo aqui totalmente incorporadas por referência).

Administração Pulmonar/Nasal

Para a administração pulmonar, preferivelmente, pelo menos uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 é liberada em um tamanho de partícula eficaz para atingir as vias aéreas inferiores dos pulmões ou seios. De acordo com a invenção, pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 pode ser liberado por qualquer uma de uma variedade de dispositivos de inalação ou nasais conhecidos na técnica para a administração de um agente terapêutico por inalação. Estes dispositivos capazes de depositar formulações aerossolizadas na cavidade sinusal ou alvéolos de um paciente incluem inaladores de dose medida, nebulizadores, geradores de pó seco, pulverizadores, e outros mais. Outros dispositivos adequados para direcionar a administração pulmonar ou nasal de anticorpos são também conhecidos na técnica. Todos estes dispositivos podem utilizar formulações adequadas para a administração para a dispensa de anticorpos em um aerossol. Tais aerossóis podem

ser compreendidos de soluções (tanto aquosas quanto não aquosas) ou partículas sólidas.

Os inaladores de dose medida como o inalador de dose medida Ventolin®, tipicamente usam um gás propulsor e requerem inspiração durante a atuação (Vide, por exemplo, WO 94/16970, WO 98/35888). Os inaladores de pó seco como Turbuhaler® (Astra), Rotahaler® (Glaxo), Diskus® (Glaxo), Spiros® inhaler (Dura), dispositivos negociados pela Inhale Therapeutics, e o inalador de pó Spinhaler® (Fisons), utilizam a atuação por respiração de um pó misturado (US 4668218 Astra, EP 237507 Astra, WO 97/25086 Glaxo, WO 94/08552 Dura, US 5458135 Inhale, WO 94/06498 Fisons, inteiramente aqui incorporados por referência). Os nebulizadores como AERx® Aradigm, o Ultravent® nebulizer (Mallinckrodt), e o Acorn II® nebulizer (Marquest Medical Products) (US 5404871 Aradigm, WO 97/22376), as referências acima inteiramente incorporadas neste documento por referência, produzem aerossóis de soluções, ao mesmo tempo inaladores de dose medida, inaladores de pó seco, etc. geram aerossóis de pequenas partículas. Estes exemplos específicos de dispositivos de inalação comercialmente disponíveis são destinados a serem um representante de dispositivos específicos adequados para a prática desta invenção, e não são destinados como limitativos do escopo da invenção.

Preferivelmente, uma composição que compreende pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 é liberada por um inalador de pó seco ou um pulverizador. Existem vários aspectos desejáveis de um dispositivo de inalação para a administração de pelo menos um anticorpo da presente invenção. Por exemplo, a liberação pelo dispositivo de inalação é vantajosamente segura, reprodutível e precisa. O dispositivo de inalação pode opcionalmente liberar pequenas partículas secas, por exemplo, menores do que cerca de 10 µm, preferivelmente cerca de 1 a 5 µm, para a boa capacidade de respiração.

Administração de Composições de Anticorpo de IL-23p19 como uma Pulverização

Uma pulverização incluindo composição de anticorpo de IL-23p19 pode ser produzida por forçar uma suspensão ou solução de pelo menos um

anticorpo anti-IL-23p19 através de um bocal sob pressão. A dimensão e configuração do bocal, a pressão aplicada, e a taxa de alimentação de líquido podem ser selecionadas para obter a saída desejada e o tamanho das partículas. Uma eletropulverização pode ser produzida, por exemplo, por um campo elétrico em conexão com uma alimentação capilar ou bocal. Vantajosamente, as partículas de pelo menos uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 liberadas por um pulverizador possuem um tamanho de partícula menor do que cerca de 10 µm, preferivelmente,na faixa de cerca de 1 µm a cerca de 5 µm, e, mais preferivelmente, cerca de 2 µm a cerca de 3µ.

As formulações de pelo menos uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 adequada para uso com um pulverizador tipicamente incluem a composição de anticorpo em uma solução aquosa em uma concentração de cerca de 0,1 mg a cerca de 100 mg de pelo menos uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 por ml de solução ou mg/gm, ou qualquer faixa, valor ou fração nesse particular. A formulação pode incluir agentes, tais como um excipiente, um tamponante, um agente de isotonicidade, um conservante, um tensoativo, e, de preferência, zinco. A formulação também pode incluir um excipiente ou agente para a estabilização da composição de anticorpo, tal como um tampão, um agente redutor, uma proteína encorpante ou um carboidrato. As proteínas encorpantes úteis na formulação de composições de anticorpos incluem albumina, protamina, ou similar. Os carboidratos típicos úteis na formulação de composições de anticorpos incluem sacarose, manitol, lactose, trealose, glicose, ou similar. A formulação de composição de anticorpo também pode incluir um tensoativo, o que pode reduzir ou evitar a agregação induzida pela superfície da composição de anticorpo causada pela atomização da solução na formação de um aerossol. Vários tensoativos convencionais podem ser empregados, tais como ésteres e álcoois de ácido graxo de polioxietileno, e ésteres de ácido graxo de polioxietileno sorbitol. As quantidades geralmente variam entre 0,001 e 14% em peso da formulação. Os tensoativos especialmente preferidos para os propósitos desta invenção são monooleato de polioxietileno sorbitano, polissorbato 80, polissorbato 20, ou similar. Os agentes adicionais conhecidos na técnica para a

formulação de uma proteína, tais como os anticorpos de IL-23p19, ou partes ou variantes especificadas, também podem ser incluídos na formulação.

Administração de Composições de Anticorpo de IL-23p19 por um Nebulizador

As composições de anticorpo da invenção podem ser administradas por um nebulizador, tais como nebulizador a jato ou um nebulizador ultra-sônico. Tipicamente, em um nebulizador a jato, uma fonte de ar comprimido é usada para criar um jato de ar de alta velocidade através de um orifício. Quando o gás se expande além do bocal, uma região de baixa pressão é criada, que puxa uma solução de composição de anticorpo através de um tubo capilar conectado a um cavidade líquido. A corrente líquida do tubo capilar é cisalhada em filamentos instáveis em gotículas quando sai do tubo, criando o aerosol. Uma faixa de configurações, taxas de fluxo, e tipos defletores pode ser empregada para alcançar as características de desempenho desejadas de um determinado nebulizador a jato. Em um nebulizador ultra-sônico, energia elétrica de alta frequência é utilizada para criar energia mecânica vibracional, tipicamente empregando um transdutor piezoelétrico. Esta energia é transmitida para a formulação de composição de anticorpos diretamente ou através de um fluido de acoplamento, criando um aerossol incluindo a composição de anticorpo. Vantajosamente, as partículas da composição de anticorpos liberadas por um nebulizador possuem um tamanho de partícula menor do que cerca 10 μm, preferivelmente na faixa de 1 μm a cerca de 5 μm, e, mis preferivelmente, cerca de 2 μm a cerca de 3 μm.

As formulações de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 adequadas para uso com um nebulizador, a jato ou ultra-sônico, tipicamente incluem uma concentração de cerca de 0,1 mg a cerca de 100 mg de pelo menos uma proteína de anticorpo anti-IL-23p19 por ml de solução. A formulação pode incluir agentes, tais como um excipiente, um tamponante, um agente de isotonicidade, um conservante, um tensoativo, e, de preferência, zinco. A formulação também pode incluir um excipiente ou agente para a estabilização dpelo menos uma composição de anticorpo anti-IL-23p19, tal como um tamponante, um agente redutor, uma proteína encorpante, ou um carboidrato. As proteínas encorpantes úteis na formulação de pelo menos

uma composição de anticorpo anti-IL-23p19s incluem albumina, protamina, ou similar. Os carboidratos típicos úteis na formulação de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s incluem sacarose, manitol, lactose, trealose, glicose, ou similar. Pelo menos uma formulação de anticorpo anti-IL-23p19 também pode incluir um tensoativo, que pode reduzir ou prevenir a agregação induzida pela superfície dpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 causada pela atomização da solução na formação de um aerossol. Vários tensoativos convencionais podem ser empregados, tais como ésteres e álcoois de ácido graxo de polioxietileno, e ésteres de ácido graxo de polioxietileno sorbital. As quantidades geralmente variarão entre cerca de 0,001 e 4% em peso da formulação. Os tensoativos especialmente preferidos para propósitos desta invenção são monooleato de polioxietileno sorbitano, polissorbato 80, polissorbato 20, ou similar. Os agentes adicionais conhecidos na técnica para a formulação de uma proteína, tal como proteína de anticorpos, também podem ser incluídos na formulação.

Administração de Composições de Anticorpo de IL-23p19 por um Inalador de Dose Medida

Em um inalador de dose medida (MDI), um propulsor, pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s, e quaisquer excipientes ou outros aditivos estão contidos em uma vasilha como uma mistura incluindo um gás comprimido liquefeito. O acionamento da válvula medidora libera a mistura como um aerossol, de preferência contendo partículas na faixa de tamanho menor do que cerca de 10 μm, preferivelmente, cerca de 5 μm, e, mais preferivelmente, cerca de 2 μm a cerca de 3 mμ. O tamanho de partícula do aerossol desejado pode ser obtido mediante o emprego de uma formulação de composição de anticorpos produzida por vários métodos conhecidos por aqueles versados na técnica, incluindo moagem a jato, secagem por pulverização, condensação de ponto crítico, ou similar. Os inaladores de dose medida preferidos incluem aqueles fabricados pela 3M ou Glaxo e que empregam um propulsor de hidrofluorocarbono. As formulações de pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19s para uso com um dispositivo inalador de dose medida geralmente incluirão um pó finamente dividido contendpelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 como uma suspensão em um

meio não aquoso, por exemplo, colocado em suspensão em um propulsor com o auxílio de um tensoativo. O propulsor pode ser qualquer material convencional empregado para este propósito, tal como clorofluorocarbono, um hidroclorofluorocarbono, um hidrofluorocarbono, ou um hidrocarboneto, incluindo triclorofluorometano, diclorodifluorometano, diclorotetrafluoroetanol e 1,1,1,2-tetrafluoroetano, HFA-134a (hidrofluroalcano-134a), HFA-227 (hidrofluroalcano-227), ou similar. Preferencialmente, o propulsor é um hidrofluorocarbono. O tensoativo pode ser selecionado para estabilizar pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 como uma suspensão no propulsor, para proteger o agente ativo contra a degradação química, e outros mais. Os tensoativos adequados incluem trioleato de sorbitano, lecitina de soja, ácido oléico, ou similar. Em alguns casos, os aerossóis em solução são preferidos usando solventes, tais como etanol. Agentes adicionais conhecidos na técnica para a formulação de uma proteína também podem ser incluídos na formulação. Uma pessoa de habilidade usual na técnica reconhecerá que os métodos da invenção corrente podem ser alcançados pela administração pulmonar de pelo menos uma composição de anticorpo anti-IL-23p19 através de dispositivos não descritos neste documento.

Formulações Orais e Administração

As formulações para administração oral contam com a co-administração de adjuvantes (por exemplo, resorcinóis e tensoativos não iônicos, tais como éter polioxietileno oleílico e éter de n-hexadecilpolietileno) para aumentar artificialmente a permeabilidade das paredes intestinais, assim como a co-administração de inibidores enzimáticos (por exemplo, inibidores de tripsina pancreáticos, diisopropilfluorofosfato (DFF) e trasilol) para inibir a degradação enzimática. As formulações para a liberação de agentes hidrófilos incluindo proteínas e anticorpos e uma combinação de pelo menos dois tensoativos destinados para administração oral, bucal, mucosal, nasal, pulmonar, transmembrana vaginal ou retal são ensinadas na U.S. 6.309.663. O composto constituinte ativo da forma de dosagem tipo sólida para administração oral pode ser misturado com pelo menos um aditivo, incluindo sacarose, lactose, celulose, manitol, trealose, rafinose, maltitol, dextrano, amidos, ágar, arginatos, quitinas, quitosanos, pectinas, goma tragacanto, goma ará-

bica, gelatina, colágeno, caseína, albumina ou polímero sintético ou semi-sintético e glicerídeo. Estas formas de dosagem também podem conter outro(s) tipo(s) de aditivos, por exemplo, agente de diluição inativo, lubrificante, tal como esteárato de magnésio, parabeno, agente conservante, tal como ácido sórbico, ácido ascórbico, .Alfa.-tocoferol, antioxidante tal como cisteína, desintegrante, aglutinante, espessante, agentes tamponizantes, agente adoçante, agente flavoriznate, agente perfumante, etc.

Os comprimidos e pílulas ainda podem ser processados nas preparações revestidas. As preparações líquidas para a administração oral incluem preparações de emulsão, xarope, elixir, suspensão e solução admissível para uso médico. Estas preparações podem conter agentes diluentes inativos normalmente utilizados em dito campo, por exemplo, água. Os lipossomas também foram descritos como sistemas de liberação de fármacos para insulina e heparina (Patente U.S. nº 4.239.754). Mais recentemente, microesferas de polímeros artificiais de aminoácidos misturados (proteinóides) foram usadas para liberar produtos farmacêuticos (Patente U.S. nº 4.925.673). Além disso, os compostos veículos descritos na Patente U.S. nº 5.879.681 e na Patente U.S. nº 5.5.871.753 e utilizados para liberar agentes biologicamente ativos oralmente são conhecidos na técnica.

Formulações Mucosas e Administração

Uma formulação para administração oral de um agente bioativo encapsulado em uma ou mais excipientes poliméricos ou copoliméricos biocompatíveis, preferivelmente, um polímero ou copolímero biodegradável, que proporciona microcápsulas que devido ao tamanho apropriado das microcápsulas resultantes resulta no agente que alcança e que é absorvido pelo agregado linfático folicular, também conhecido como a "emplastro de Peyer", ou "GALT" do animal sem perda de eficácia devido ao agente tendo passado através do trato gastrointestinal. Os agregados linfático foliculares similares podem ser observados nos tubos brônquicos (BALT) e no intestino grosso. Os tecidos descritos acima são referidos em geral como tecidos linforreticulares mucosamente associados (MALT). Para a absorção através das superfícies mucosas, as composições e métodos de administração de pelo menos um anticorpo anti-IL-

23p19s incluem uma emulsão que compreende uma pluralidade de partículas submícrons, uma macromolécula mucoadesiva, um peptídeo bioativo e uma fase contínua aquosa, que promove a absorção através das superfícies mucosas mediante a conclusão da mucoaderência das partículas de emulsão (Patente U.S. nº 5.514.670). As superfícies mucosas adequadas para aplicação da emulsão da presente invenção podem incluir vias de administração corneais, conjuntivas, bucais, sublinguais, nasais, vaginais, pulmonares, estomacais, intestinais, e retais. As formulações para a administração vaginal ou retal, por exemplo, supositórios, podem conter como excipientes, por exemplo, polialquilenoglicóis, vaselina, manteiga de cacau, e outros mais. As formulações para a administração intranasal podem ser sólidas e conter como excipientes, por exemplo, lactose ou podem ser soluções aquosas ou oleosas de gotas nasais. Para a administração bucal, os excipientes incluem açúcares, estearato de cálcio, estearato de magnésio, amido pré-gelatinado, e outros mais (Patente U.S. nº 5.849.695).

Formulações Transdérmicas e Administração

Para a administração transdérmica, pelo menos um anticorpo anti-IL-23p19 é encapsulado em um dispositivo de liberação, tal como um lipossoma ou nanopartículas poliméricas, micropartículas, microcápsulas, ou microesferas (referidos coletivamente como micropartículas, a não ser que de outra maneira mencionada). Vários dispositivos adequados são conhecidos, incluindo micropartículas produzidas de polímeros sintéticos, como ácidos de poliidróxi, tal como ácido poliláctico, ácido poliglicólico e copolímeros destes, poliortoésteres, polianidridos, e polifosfazenos, e polímeros naturais, tais como colágeno, ácidos de poliamino, albumina e outras proteínas, alginato e outros polissacarídeos, e suas combinações (Patente U.S. nº 5.814.599).

Administração Prolongada e Formulações

Pode ser desejável liberar os compostos da presente invenção ao indivíduo durante longos períodos de tempo, por exemplo, por períodos de uma semana a um ano a partir de uma única administração. Várias formas de dosagem de liberação lenta, depósito ou implante podem ser utilizadas. Por exemplo, uma forma de dosagem pode conter um sal não tóxico

farmaceuticamente aceitável dos compostos que possuem um baixo grau de solubilidade nos fluidos corporais, por exemplo, (a) um sal de adição de ácido com uma ácido polibásico, tal como o ácido fosfórico, sulfúrico ácido, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido tânico, ácido pamóico, ácido algínico, ácido poliglutâmico, ácidos naftaleno mono- ou dissulfônicos, ácido poligalacturônico, e outros mais; (b) um sal com um cátion de metal polivalente, tal como zinco, cálcio, bismuto, bário, magnésio, alumínio, cobre, cobalto, níquel, cádmio e similares, ou com um cátion orgânico formado de, por exemplo, N,N'-dibenzil-etilenodiamina ou etilenodiamina; ou (c) combinações de (a) e (b), por exemplo, um sal de tanato de zinco. Adicionalmente, os compostos da presente invenção ou, preferivelmente, um sal relativamente insolúvel, tal como aqueles há pouco descritos, podem ser formulados em um gel, por exemplo, um gel de monoestearato de alumínio com, por exemplo, óleo de gergelim, adequado para injeção. Os sais particularmente preferidos são sais de zinco, sais de zinco tanato, sais de pamoato, e outros mais. Um outro tipo de formulação de depósito de liberação lenta para injeção deve conter o composto ou de sal disperso para encapsulamento em um polímero não tóxico e não antigênico de degradação lenta, tal como um polímero de ácido poliláctico/ácido poliglicólico, por exemplo, como descrito na Patente U.S. nº 3.773.919. Os compostos ou, preferivelmente, os sais relativamente insolúveis, tais como aqueles acima descritos, podem também ser formuladas em grânulos silásticos da matriz de colesterol, particularmente para uso em animais. As formulações de depósito ou implante de liberação lenta, por exemplo, lipossomas gasosos ou líquidos, são conhecidas na literatura (Patente U.S. nº 5.770.222 e "Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems", J. R. Robinson ed., Marcel Dekker, Inc., N.Y., 1978).

Tendo descrito a invenção de uma forma geral, a mesma será mais facilmente compreendida por referência aos exemplos que seguem, que são fornecidos por meio de ilustração e não se destinam como limitativos.

Exemplos

Exemplo 1 - Isolamento dos anticorpos específicos anti-humano de IL-23 humanos pela exibição fago

Métodos gerais têm sido descritos para a seleção dos anticorpos específicos do antígeno a partir das bibliotecas HuCAL® preparadas em MorphoSys (Knappik et al., 2000; Krebs et al., 2001; Rauchenberger et al, 2003). Sub-misturas específicas da região VH da biblioteca HuCAL Gold® Fab (Kretzschmar & von Ruden, 2002) foram utilizadas para a seleção de anticorpos contra a IL-23 humana recombinante (hrIL-23). Várias estratégias de seleção diferentes foram utilizadas e incluem:

1. Seleção contra a proteína hIL-23 recombinante que foi imobilizada diretamente em plástico, com ou sem pré-adsorção da biblioteca sobre a proteína IL-12 humana recombinante (hrIL-12) também adsorvida diretamente em plástico. As proteínas hIL-23 e hIL-12 recombinantes foram produzidas em Centocor.

2. Seleção com proteína IL-23 humana recombinante em solução, seguida pela recuperação do fago ligado mediante a captura da proteína hIL-23 em uma hrIL-12p40 mAb imobilizada. As seleções foram realizadas com ou sem pré-adsorção da biblioteca nas proteínas hrIL-12 recombinantes capturadas com o mesmo mAb.

3. Seleção com proteína hrIL-23 quimicamente biotinilada em solução, seguida pela captura do fago ligado com glóbulos magnéticos revestidos de SA. As seleções foram realizadas com ou sem a proteína hrIL-12 com excesso molar como um concorrente.

O DNA fagomid recuperado foi convertido *en massa* em um vetor de expressão Fab e clones individuais seguinte a transformação foram submetidos a triagem para ligação à hrIL-23 e não à hrIL-12. O seqüência dos clones positivos identificados 76 Fabs únicos.

Exemplo 2 - Caracterização de Fabs

Os Fabs positivos foram produzidos e purificados como anteriormente descritos (Knappik et al., 2000; Krebs et al., 2001; Rauchenberger et al, 2003) e confirmados para especificidade de ligação à hrIL-23, mas não à hrIL-12 ou para a subunidade p40 de hrIL-12 (hrp40) nos ensaios similares a aqueles descritos no Exemplo 3 abaixo. Os Fabs confirmados foram testados com relação a (1) inibição da ligação de hrIL-23 ao receptor de IL-23

humano (hIL-23R) ou ao receptor de IL-12 humano β1 (hIL-12Rβ1), (2) falta de inibição da ligação de hrIL-12 ao IL-12RILβ1, (3) inibição da ligação de hrIL-23 nas células TALL-104 naturalmente expressando IL-23R e IL-12Rβ1 e (4) afinidade de ligação à hrIL-23, hrIL-12 e subunidade hrp40. A especificidade e afinidade de ligação são resumidas na Tabela 1 e a inibição da ligação de hrIL-23 à hIL-23R é listada na Tabela 2. O Fab12A na Tabela 1 é um padrão de referência que é derivado de um mAb específico de IL-12p40. A IL-23R-Fc na Tabela 2 é um padrão de referência correspondente ao domínio extracelular da IL-23R humana fundida em um Fc humano.

Em geral, os ensaios de inibição do receptor foram similares a aqueles descritos abaixo no Exemplo 4 para os derivados de mAb destes Fabs. Um ensaio adicional foi medir a inibição da ligação de rhIL-23 às células TALL 104. Estas células expressam os receptores humanos tanto IL-23 quanto IL-12 R beta 1. 10 dos 13 Fabs candidatos tinham o perfil de atividade desejado de nenhuma reatividade com a IL-12 humana ou proteínas p40 em qualquer ensaio e pelo menos inibição parcial da ligação de hrIL-23 ao receptor de IL-23. As seqüências de CDR de seis dos Fabs (4083, 4190, 4205, 4217, 4649 e 4658) são apresentadas na Tabela 4 (negrito). As seqüências da região V completas para estes Fabs são apresentadas na Tabela 8.

Produção de Fabs em um formato IgG1 humano

Os Fabs candidatos foram clonados em vetores de formato IgG1/kappa ou lambda mAb humanos e produzidos pela transfecção transitória em células HEK293 para outra análise como mAbs. No total, onze dos 13 Fabs ativos apresentam um perfil desejado como mAbs. Eles são específicos para a IL-23 e pelo menos parcialmente inibiram a ligação de IL-23 humana à proteína de fusão IL-23R-Fc humana (Tabela 3). Os ensaios e resultados são citados nos Exemplos que se seguem.

Exemplo 3 – Especificidade da Subunidade de hIL-23p19 mAbs derivados da exibição fago de anticorpos.

mAbs anti-LIS-23 de camundongo purificados foram avaliados no ELISA de captura de citocina para determinar a sua especificidade de subunidade do antígeno. Resumidamente, IL-23 mAbs foram revestidos em

placas e incubados com 100 ng/ml) hrIL-23, hrIL-12 e hrp40, respectivamente. Após incubação com anti-p40 mAb biotinilado, a ligação foi detectado utilizando estreptavidina conjugada com HRP. Um anti-p40 mAb e um anti-IL-12 mAb (20C2, Catalog No. 555065, BD Pharmingen, San Diego, CA) com especificidade conhecida foram utilizadas como controle.

As figuras 1A e 1B demonstram a especificidade de ligação para dois destes mAbs, MOR04083 (o mesmo como 4083) e MOR04190 (o mesmo como 4190). A figura 1A mostra que os mAbs se ligam especificamente à hrIL-23 e não à hrIL-12 ou monômero hrp40. Devido ao fato que a subunidade de IL-23p19 deve covalentemente se associar com p40 para ser secretada a partir das células de mamífero, os IL-23 mAbs que não reconhecem o monômero p40 devem se ligar à subunidade de IL-23p19 isoladamente ou um epítopo de união do heterodímero p19-p40. Portanto, estes IL-23 mAbs são referidos como IL-23p19 mAbs. Em comparação, todas as 3 proteínas (hrIL-23, hrIL-12 e hrp40) se ligam ao mAb 12A, um anticorpo específico da p40 anti-humano de neutralização. A figura 1B mostra que o mesmo mAb não se liga à IL-23 de murino ou à p40 de murino. Em um formato inverso, os mAbs imobilizados possuem curvas de ligação similares à hrIL-23 em solução (figura 2), coerente com a sua afinidade de ligação comparável como Fabs (Tabela 1). A especificidade de ligação destes e outros mAbs candidatos é resumida na Tabela 3.

Exemplo 4 - Inibição da Ligação do Receptor de IL-23 pelo IL-23p19 mAbs

Para demonstrar que os IL-23p19 mAbs são anticorpos de neutralização contra a subunidade p19, os mAbs foram testadas com relação a sua inibição de ligação de IL-23 e IL-23R. Nesta experiência, uma proteína de fusão IL-23R-Fc humana foi imobilizada sobre uma placa. Esta proteína de fusão consiste no domínio extracelular do receptor de IL-23 humano fundido a um segmento Fc humano. A hrIL-23 submetida a biotina foi adicionada à placa isoladamente ou após a pré-incubação com IL-23p19 mAbs individuais. A IL-23R (IL-23R-Fc) solúvel foi usado como um controle positivo. A ligação de IL-23 foi detectada com estreptavidina conjugada com HRP. Como mostrado na figura 3A, os mAbs MOR04083 e MOR04190 impedem a

ligação de IL-23/IL-23R com uma potência de cerca de 3 vezes mais fraca do que a IL-23R-FC solúvel. Não houve qualquer inibição por B21M, um mAb com especificidade não relacionada. Ao contrário, quando a IL-12Rβ1 foi imobilizada em uma placa, estes mAbs não inibiram a ligação de IL-23/IL-12R (figura 3B)). A ligação de IL23 foi inibida pelo mAb de neutralização de p40 CNTO 1275 (o mesmo que mAb 12A), como esperado. Do mesmo modo, estes mAbs não bloquearam a ligação de IL-12/IL-12Rβ1 (figura 3C). O CNTO 1275 novamente serviu como um controle positivo. A inibição seletiva da ligação de IL-23/IL-23R e a falta de interferência com a ligação de IL-12 ou IL-23 à IL-12Rβ1 ainda demonstram que estes IL-23p19 mAbs não se ligam à subunidade de p40 e assim são anticorpos de IL-23p19s anti-humanos de neutralização. Os estudos de inibição do receptor com estes mAbs são resumidos na Tabela 3.

Exemplo 5 - Neutralização da Função Biológica de IL-23 por IL-23p19 mAbs

A IL-23 é conhecida de induzir a fosforilação STAT3 intracelular e a produção de IL-17 por células T. Portanto, os IL-23p19 mAbs foram testados com relação a sua capacidade de inibir estas funções biológicas de IL-23 humana.

Em um experiência, células exterminadoras naturais (NKL) foram estimuladas com hrIL-23 isoladamente ou após pré-incubação com os mAbs MOR04083 e MOR0190 em 20 ug/ml e 10 ug/ml, respectivamente. O MAb 12A (1 ug/ml) foi o controle positivo e C8.3 (10 ug/ml), um p40 mAb anti-humano de não neutralização, foi o controle negativo. As células tratadas foram manchadas com anticorpos anti-fosfo-STAT3 conjugados com fluorocromo e analisadas por citometria de fluxo intracelular (figura 4). Estes mAbs completamente inibiram a fosforilação STAT3, embora com potência mais baixa do que o anti-p40 mAb 12A de neutralização. A potência mais baixa dos IL-23p19 mAbs provavelmente reflete sua afinidade relativamente fraca.

Em outra experiência, esplenócitos de murino recentemente isolados foram tratados com hrIL-23 pré-incubada com IL-23p19 mAbs titulados ou mAbs de controle. A hrIL-23 sem pré-incubação de anticorpo foi utilizada como o controlo positivo. Após 3 dias na cultura, os sobrenadantes celulares

foram coletados e analisados por ELISA utilizando uma série de par de ELISA de IL-17 (R & D Systems). Como mostrado na figura 5A, os IL-23p19 mAbs MOR04083 e MOR04190 inibiram a produção de IL-17 mediada por hrIL-23. Estes mAbs também inibiram a produção de IL-17 induzida pela IL-23 nativa produzida por PBMCs humanos (figura 5B) e de macaco cinomólogo (figura 5C).

Em comparação, os IL-23p19 mAbs foram testados com relação a sua capacidade de inibir a produção de IFNγ induzida por hrIL-12. Resumidamente, as células de NK92MI foram tratadas com IL-12 pré-incubada com IL-23p19 mAbs titulados ou mAbs de controle (figura 6). A IL-12 sem a pré-incubação de anticorpo foi utilizada como o controle negativo e o CNTO 1275 como o controlo positivo. A análise ELISA realizada 24 horas após a estimulação não mostrou nenhum efeito de IL-23p19 mAbs MOR04083 e 4190 sobre a produção de IFNγ induzida por IL-12 demonstrando que os anticorpos não se ligam e neutralizam a subunidade p40 compartilhada em IL-12 e IL-23. Os resultados destes ensaios são resumidos na Tabela 3.

Exemplo 6 – Identificação de epítopo de IL-23p19 mAbs

A análise de ligação competitiva foi executada para determinar se os IL-23p19 mAbs de neutralização se ligam aos epítopos de IL-23p19 similares ou diferentes. Os resultados para mAbs, MOR04083, MOR04190 e MOR04217, são mostrados na figura 7. os IL-23 mAbs foram individualmente revestidos sobre as placas de ELISA. Os mAbs competitivos foram adicionados, seguidos pela adição de hrIL-23 biotinilada. Para o controle positivo, o mesmo mAb para revestimento foi usado como o mAb competitivo ("auto-competição"). A ligação de IL-23 foi detectada utilizando estreptavidina. Todos os três mAbs apresentam competição cruzada em graus variáveis, indicando a ligação aos sítios espacialmente relacionados.

Exemplo 7 – Maturação por afinidade dos Fabs de neutralização candidatos

Os Fabs MOR04083, 04190, 04649 e 04658 foram selecionados para a maturação por afinidade independente com base na caracterização acima nos formatos tanto Fab quanto mAb. Utilizando a característica de cassete do sistema HuCal® (Knappik et al., 2000), duas bibliotecas fago variantes foram

construídas para cada Fab, uma para CDR3 da região variável de cadeia leve (VL) e outra para CDR2 da região variável de cadeia pesada (VH). Estas bibliotecas foram selecionadas contra a hrIL-23 biotinilada em solução sob severidades variáveis de lavagem e de concentração de antígeno. 35 Fabs únicos foram recuperados, cada um apresentando atividade de ligação melhorada em relação ao Fab parental de partida. Subseqüentemente, três Fabs adicionais (5267, 5268 e 5269; todas variantes de VL-CDR3 de 4083) foram selecionados em uma segunda rodada de triagem. As seqüências de CDR dos Fabs parentais, os derivados maduros das bibliotecas VL-CDR3 ou VH-CDR2, e variantes destas seqüências são mostrados nas Tabelas 4A e B. As seqüências região V completas são apresentadas na Tabela 8.

Exemplo 8 - Produção e caracterização de Fabs maduros por afinidade

Os 38 Fabs selecionados foram produzidos, purificados e caracterizados essencialmente como descrito nos Exemplos de 2 a 4 acima. Dez dos Fabs forneceram rendimentos fracos e/ou apresentaram padrões heterogêneos na cromatografia de exclusão por tamanho e foram excluídos de outra análise. Os 28 Fabs restantes foram analisados com relação a especificidade de ligação, afinidade, e inibição da ligação de receptor. Todos os Fabs foram específicos para a IL-23p19 e tinham afinidades de 10 a 500 vezes mais elevadas para hrIL-23 do que o Fab parental correspondente (Tabelas 5 e 6). Todos apresentaram valores IC50 melhorados para inibição da ligação de hrIL-23à proteína de fusão IL-23R Fc e, como os Fabs parentais, não inibiram a ligação de IL-23 ou IL-12 na proteína de fusão Fc do receptor de IL-12Rb1 (Tabelas 5 e 6). Como esperado a partir destes resultados, nenhum dos Fabs inibiram a ligação de hrIL-23 às células TALL-104 quando medido por citometria de fluxo, consistente com falta de inibição similar pelos Fabs parentais.

Exemplo 9 - Produção e caracterização do Abs amadurecido por afinidade em um formato mAb

34 dos 35 Fabs selecionados foram clonados em vetores de formato IgG1/kappa ou lambda mAb humanos e produzidos pela transfecção transitória em células HEK293 para outra análise. Todos os anticorpos foram avaliados para a inibição da produção de IL-17 como descrito no Exemplo 5,

acima (Tabela 7). Na maioria dos casos, cada um dos derivados maduros foi mais potente do que o seu parente correspondente, com melhoras na IC50 até 200 vezes. As propriedades bioquímicas dos 34 mAbs foram avaliadas por SDS-PAGE e cromatografia de exclusão por tamanho para indicações de agregação, heterogeneidade da cadeia, e formação de ligação de dissulfeto incompleta entre as cadeias pesadas e leves na região da dobradiça.

A partir da atividade combinada e análise bioquímica, 7 mAbs foram selecionados para análise mais detalhada, pelo menos um de cada anticorpo parental original. Os anticorpos MOR05058 e 05059, derivados das bibliotecas de diversidade VL CDR3 de MOR04649, foram excluídis deste conjunto (vide exemplos 10 e 11). Todos os candidatos selecionados inibiram a produção de IL-17 induzida pela IL-23 nativa de ser humano (figura 8) e macaco cinomólogo PBMCs (não mostrados). Como esperado, todos inibiram a ligação de hrIL-23 à proteína de fusão hrIL-23R Fc com uma potência maior do que a da mAb IL-23A de controle (figura 9). Com a possível exceção de MOR05053, estes mAbs selecionados não inibiram a bioatividade de IL-12 nativa (não mostrada), consistente com a falta de ligação daqueles disponíveis como Fabs com a proteína hrIL-12.

Exemplo 10 - Produção e caracterização dos mAbs de combinação de cadeia cruzada

Os Fabs de origem MOR04190, 04649, 4658 e deram origem aos Fabs melhorados das bibliotecas de diversidade tanto VH CDR2 quanto VL CDR3. Os Fabs derivados de MOR04649 foram de particular interesse devido à sua atividade relativamente potente de ambos os tipos de bibliotecas. No entanto, o Fab MOR04649 de origem contém um previsível, mas potencialmente desfavorável, sítio de glicosilação N-ligado em VH CDR2 que não está presente em qualquer uma das 6 Fabs melhoradas derivadas da biblioteca VH CDR2. Para eliminar este sítio de glicosilação e teste com relação atividade melhorada potencial, as cadeias pesadas de MOR05042 e 05045 foram expressas com as cadeias leves de MOR05058 e 5059 nas células HEK293 (Tabela 4C - mAbs 42-58, 42-59, 45-58, e 45-59). Nenhuma das combinações foram antagonistas mais potente (produção de IL-17 e ini-

bição da ligação de IL-23 à IL-23R) do que os respectivos mAbs de cadeia doadora e cada um mostrou uma maior tendência para agregação mediante a cromatografia de exclusão por tamanho (não mostrada).

Exemplo 11 – Mutagênese de substituição de mAbs maduros selecionados e a sua caracterização

As substituições de aminoácido foram introduzidas em mAbs selecionados para eliminar o sítio de glicosilação N-ligado prognosticado e/ou conformar os terminais de amino das regiões variáveis com sua seqüência da região V da linha germinativa humana. O sítio de glicosilação N-ligado prognosticado na Vh de 5058 e 5059 ( "NYS" em CDR2, mesmo como no Vh de origem de MOR04649 VH) foi eliminado por substituição de arginina (4649r) ou ácido aspártico (4649d) para asparagina na posição 59 (numeração direta). As seqüências de CDR destas regiões VH são apresentadas na Tabela 4A e as seqüências da região V total são apresentadas na Tabela 8. Estas variantes foram produzidas pela expressão transitória nas células HEK 293 e purificadas pela cromatografia de afinidade da Proteína A. Estes mAbs mostraram potência melhorada em relação aos anticorpos de origem em sua inibição da produção de IL-17. A substituição de arginina em MOR05059 tinha o melhor perfil baseado na atividade e caracterização bioquímica e foi nomeada mAb 3759 Tabela 4C).

Os MAbs5040 e 3759 foram selecionados como exemplos máximos com base em uma de suas atividades e caracterização bioquímica. As substituições de aminoácido foram introduzidas para a conformidade com a seqüência de anticorpo da linha germinativa humana e uma substituição de aminoácido única foi feita na região = 5040 VL para reverter uma mutação estrutural de volta à linha germinativa, substituindo uma valina para treonina na posição 86.

As seqüências de aminoácido alteradas do formato mAb original foram as seguintes:

| Anticorpo | VH | VL |
|---|---|---|
| 5040 E(3) para Q | D(1) para E, T(86) para V | |
| 3759 | Q(1)E(3) para EQ | D(1)I(2) para QS |

A mudança de E3 para Q em VH de ambos os anticorpos é a reversão de uma substituição E introduzida após a clonagem do Fab no vetor de formato mAb. Q estava presente nesta posição nos Fabs originais e pode ser usado como uma variante para a substituição E em vários mAbs.

Estas variantes são designados $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$. As regiões do componente V de $5040^{Q/EV}$ são 5040 VH e $4190^{EV}$ VL (Tabela 4C). As regiões do componente V de $3759^{EQ/QS}$ são $4649r^{E}$ VH e $5059^{QS}$ VL (Tabela 4C). As seqüências dos CDRs e regiões V completas das cadeias de componente de ambos os anticorpos são mostradas nas Tabelas 4 e 8, respectivamente. Substituições similares podem ser identificadas por qualquer um dos candidatos em comparação com as suas seqüências da linha germinativa humana prognosticada.

Os mAbs $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ foram produzidos pela expressão transitória em células HEK 293 e purificados pela cromatografia de afinidade da Proteína A. Estes mAbs retêm a especificidade completa para a IL-23 humana em relação às IL-12 e p40, como mostrado na figura 10. Estes mAbs inibem a ligação da IL-23 humana recombinante à IL-23R-Fc e são mais potentes do que a referência, mAb23A (figura 11A).Como esperado de seu perfil de especificidade, eles não inibem a IL-23 (figura 11B) ou a ligação IL-12 (figura 11C) à IL-12Rβ1. Consistente com este padrão de inibição do receptor, estes mAbs não inibem a produção de IFNγ induzida por L-12 a partir das células NK92M1 (figura 12), mas inibem a produção induzida por IL-23 tanto recombinante (figura 13) quanto nativa (figura 14) de IL-17 de esplenócitos de murino. Estes mAbs também mostram inibição muito forte de indução de IL-17 por IL-23 nativa de macaco cinomólogo (figura 15), demonstrando um elevado grau de reatividade cruzada com IL-23 de macaco cinomólogo. Estes mAbs também inibiram a fosforilação STAT3 induzida em células NK humanas pela IL-23 humana recombinante (não mostrada).

Os mAbs $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ reconhecem os epítopos intimamente posicionados na IL-23 como demonstrado pela sua inibição de ligação mAB23A (figura 16A) e sua competição recíproca uns com os outros (figuras 16B e 16-C). O epítopo de mAb23A foi mapeado em p19 humano na região

ao redor de I93-G105:

$I_{93}$HQGLIFYEKLL$G_{105}$.

Os resultados de competição mostram que os epítopos para mAbs $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ se situam na mesma região.

Exemplo 12 – Variantes da seqüência de codificação de mAbs $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$ e sua caracterização

A seqüência de codificação das regiões variáveis dos anticorpos foi projetada em três variantes de seqüência de codificação diferentes para avaliar o impacto sobre a expressão destas proteínas. A primeira variante usou os códons como obtidos a partir da biblioteca original, com algumas substituições de nucleotídeo para remover os sítios de união do mRNA de consenso. A segunda variante, troca de códon da linha germinativa (GCE), foi designada pelo alinhamento das seqüências de aminoácido região variável com os genes da linha germinativa, identificação do gene da linha germinativa de combinação mais próximo e substituição dos códons na seqüência de codificação original com os códons sinônimos que são usados no gene da linha germinativa. Nas posições onde o resíduo de aminoácido não teve uma combinação com os genes da linha germinativa, o códon que é usado na freqüência mais elevada nas proteínas humanas altamente expressas foi substituído pelo códon original. A terceira variante de códon foi designada pela substituição dos códons de anticorpo de partida com o códon que é usado na freqüência mais elevada nas proteínas humanas altamente expressas. Cada variante de códon expressado como medido pela transfecção transitória em células HEK 293 e células CHO. Este resultado mostra que os transfectantes da linhagem celular estáveis podem ser estabelecidos nestas, e provavelmente outras células hospedeiras e a variante de expressão mais elevada podem ser usadas para o desenvolvimento de uma linhagem celular de produção. Os mAbs são avaliados como descrito no Exemplo 11, além de outras análises das propriedades funcionais e bioquímicas e biofísicas. A Tabela 9 mostra as seqüências de nucleótidos de cadeia pesada e leve variáveis para as variantes de mAb $5040^{Q/EV}$ e $3759^{EQ/QS}$.

Para os propósitos da presente invenção, de 70 a 100% de iden-

tidade da seqüência de aminoácido ou de nucleotídeo (isto é, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 ou qualquer faixa ou valor nesse particular) é determinado usando um algoritmo de computador adequado, como conhecido na técnica.

Exemplo 13 - Anticorpo Anti-IL23p19 em Modelo de Camundongo com Psoríase

A variante de mAb $3759^{EQ/QS}$ foi avaliada no que diz respeito à sua capacidade de suprimir os aspectos da psoríase em um modelo de camundongo humanizado. A pele não lesionada de pacientes com psoríase foi transplantada em camundongos imunodeficientes, e, após a aceitação dos enxertos, o processo psoriático foi desencadeado pela injecção intradérmica de células T ativadas autólogas. Os camundongos foram tratados intraperitonealmente uma vez por semana mediante a administração de 10 mg/kg de anticorpo. Os camundongos de controle foram tratados com veículo ou com ciclosporina A. Os pesos corporais dos camundongos foram avaliados em uma base semanal.

Após 3 semanas de tratamento, os camundongos foram sacrificados e a biópsias da pele transplantada foram avaliadas com relação à espessura epidérmica, citoqueratina-16 e os números de células positivas HLA-DR e Ki-67 na epiderme.

Este estudo mostra que o anticorpo anti-IL23p19 foi eficaz na inibição da proliferação de espessamento e ceratinócito epidérmico (por exemplo, manchamento Ki-67), em uma dosagem de 10 mg/kg. O grau de inibição foi comparável a aquele obtido com a ciclosporina A. O tratamento de anticorpo não foi associado com a supressão significativa de HLA-DR ou citoqueratina-16. O tratamento com ciclosporina A também não teve nenhum efeito significativo sobre HLA-DR e citoqueratina-16. Estes dados sugerem que o anticorpo pode ser eficaz na supressão de hiperplasia epidérmica na psoríase.

O modelo de camundongo humanizado de psoríase se baseia em experiências descritas por Wrone-Smith et al. 1996 Dermal injection of immunocytes induces psoriasis. J. Clin. Invest. 98:1878-1887. É o único modelo pré-clínico disponível em que os efeitos dos fármacos sobre o desen-

volvimento de uma lesão psoriática humana podem ser monitorados *in vivo*. Para executar o modelo, biópsias de pele não lesionada (5 mm) de pacientes com psoríase voluntários são transplantadas para camundongos recebedores imunodeficientes. Simultaneamente, os pacientes doam sangue a partir do qual as células mononucleares do sangue periférico (PBMC) são isoladas e crioconservadas. As PBMC são estimuladas com o superantígeno por um período de 48 horas antes da injeção intradérmica na pele transplantada autólogo (3 semanas após o transplante). As células ativadas injetadas reagem com a pele humana resultando em hiperproliferação da epiderme. A lesão é caracterizada por sulcos alongados (irregulares e regulares) e hiperplasia epidérmica marcante de ceratinócitos com diferenciação alterada.

Material e Métodos

Substância de teste

Peso molecular de Ab: 150.000 dáltons

Solubilidade em água: >20 mg/ml

Controle de companhia: PBS

Composto de referência: Ciclosporina A

Peso molecular: 1202,63 Dáltons

Fornecedor: Wako GmbH

Número do lote: EWP5926

Número de Cat.: 039-16301

Condições de armazenagem: 2 a 10ºC

Veículo para o composto de referência: Hidroxipropilcelulose (HPC)

Fornecedor: Nippon Soda Co., Ltd, Japan

Número do lote: HPC-L 9004-64-2

Número Cat.: NDA-1011

Condições de armazenagem: ± 21 ºC

A substância de teste foi testada no modelo de camundongo humanizado de psoríase em um agente de formulação. Os compostos foram armazenados a 4 °C até à utilização. A ciclosporina A e a solução de hidroxipropilcelulose (veículo de CsA) foram fornecidas e preparadas por TNO. Hidroxipropilcelulose 0,5% foi preparada em água destilada e esterilizada em uma

temperatura de 120 ºC durante 25 minutos. Após esterilização, a HPC foi armazenada em 4 ºC até à sua utilização. Imediatamente antes do tratamento intraperitoneal, a quantidade requerida de CsA foi pesada e misturada com o veículo com a utilização de um pilão. A suspensão homogênea estável foi preparada mediante a mistura de uma quantidade requerida pulverizada do CsA com o veículo de HPC para um volume total de 200 µl por camundongo (colocado em suspensão novamente segundos antes do tratamento).

Camundongos

Nomenclatura: NIH-*lyst*$^{bg}$ *Foxn1*$^{nu}$ *Btk*$^{xid}$, cepa código 201 (homozigótica) Origem: A maioria comumente chamada de NIH-III, foi desenvolvida no National Institutes of Health, Bethesda. Além do gene nu, que resulta na ausência de timo e de função celular T, este camundongo possui duas outras mutações importantes na regulação da função do sistema imunológico. Estas são designadas como defeito imunológico ligado a x (xid) e bege (bg). Os camundongos beges possuem uma grave deficiência de células exterminadoras naturais (NK) (Roder et al, 1979). Os camundongos com a mutação xid possuem defeitos funcionais de linfócitos B (Scher et al, 1980). Esta tripla deficiência possui o efeito de que estes camundongos podem servir como hospedeiros para linhagens tumorais, que não crescerão ou crescem muito lentamente em camundongos nus. A enxertia de camundongos *bg-nu-xid* com células troncos hematopoéticas humanas foi descrita por Kamel-Reid and Dick (1988). A extensão das deficiências de linfócito B independente T e célula NK no NIH III não foi estabelecida. Cor: sem pêlos, pele pigmentada cinza-claro e escuro.

Camundongos BNX machos (NIH III homozigóticos), 8 semanas de idade, foram fornecidos pela Charles River (US) e liberados em TNO. Eles foram aclimatizados nas condições de laboratório durante pelo menos 7 dias antes do transplante. Os camundongos foram mantidos em ambientes ventilados com 9 a 11 mudanças de ar por hora e mantidos a uma temperatura de 22 ± 3ºC e uma umidade média relativa de 55% (40 a 70%). A iluminação foi artificial com uma seqüência de 12 horas luz e 12 horas escuro. Antes do transplante, os camundongos foram individualmente alojados em

gaiolas macrolon tipo 2 com serragem. Após o transplante os camundongos foram individualmente alojados em gaiolas ventiladas. O relatório de saúde destes camundongos recebido do fornecedor não mostrou nenhum agente patológico nestes animais.

Antes que os camundongos fossem transplantados, eles foram aclimatizados durante 1 semana. Após o transplante, os camundongos com transplantes aceitos (como avaliado por exame macroscópico no que diz respeito à aparência geral, danos, feridas, integração e vermelhidão) foram escolhidos a esmo ao longo dos grupos de tratamento. Os critérios de escolha a esmo aplicados foram a prevenção da:

1. União de biópsias igualadas com o doador em um grupo.

2. A distribuição de biópsias igualadas com o doador em grupos de dose escalonadas tanto quanto possível.

Sessenta e um camundongos transplantados (de um total de 72 camundongos transplantados) foram considerados adequados para inclusão no estudo e isto permitiu 9 grupos de camundongos (6 a 7 camundongos por grupo).

Subseqüentemente, PBMC ativados dos pacientes (0,5 x $10^6$/transplante), foram injetados nos transplantes autólogos (dia 0). Em geral, os fenótipos de PBMC ativados (após cultura por 48 horas e antes da injeção), conforme determinado regularmente pela citometria de fluxo (não avaliada neste estudo) apresentam células CD3+ (20 a 85% da população celular total), células CD4+ (20 a 60% da população total de CD3), células CD8+ (20 a 55% da população total de CD3), CD4+CD8+ (5 a 20% da população total de CD3), células CD25+ (30 a 65% da população de CD3 total), células HLA-DR+ (5 a 20% da população total de CD3), células CD69+HLA-DR+ combinadas (10 a 55% da população total de CD3), células CD54+ (50 a 85% da população de CD3 total), e células CD49d+ (10 a 60% do população de CD3 total). Além disso, a maioria dos marcadores de ativação e migração acima mencionados são supra-regulados quando comparado com o dia 0 ou 1 após a ativação *in vitro* pela SEB.

Os camundongos foram tratados a partir do dia 1 até o dia 21

por administração intraperitoneal de 200 µl de composto ou veículo. Um grupo controle foi oralmente tratado com CsA. O efeito do tratamento com anticorpo anti-IL23p19 foi avaliado em um estudo de 21 dias em uma dosagem IP semanal de 10 mg/kg. Os camundongos tratados com veículo (PBS) serviram como controle negativo. A ciclosporina A (20 mg/kg, por os) foi administrada uma vez por dia durante um período de 21 dias e serviu como controle positivo. O peso corporal foi medido semanalmente, com início três dias antes do início do tratamento.

Parâmetros do resultado

- Espessura epidérmico (µm).
- HLA-DR (epiderme)
- Ki-67 (epiderme)
- Citoqueeratina-16 (epiderme)

Preparação das biópsias de pele e transplante

Consentimento informado foi obtido de todos os doadores de pele. Todos os pacientes adultos foram clinicamente diagnosticados por um dermatologista como pacientes que sofrem de psoriasis vulgaris. Os pacientes não sofriam de psoríase extensa e não excederam a uma pontuação PASI de 6. Os pacientes não passaram por terapia de luz ou qualquer terapia sistêmica (por exemplo, metotrexato, ciclosporina ou qualquer terapia dirigida a TNF-α). Os pacientes foram aceitos como doadores se eles utilizarem corticosteróides localmente, quando necessário, ou cremes básicos para evitar a secura da pele. Sexo, idade, ou duração/passado histórico da doença não faziam parte dos critérios de inclusão ou exclusão.

Três biópsias pele não lesionada (5 mm de diâmetro) e aproximadamente 30 ml de sangue foram obtidos de cada paciente com psoríase. Após tomar as biópsias da pele e remoção de gordura subcutânea, as biópsias da pele foram armazenadas em tubos estéreis contendo ligaduras cirúrgicas estéreis umedecidas com salina em uma temperatura de aproximadamente +4ºC. O transporte da pele e sangue até o laboratório foi realizado dentro de 7 horas após a coleta. As células mononucleares do sangue periférico (PBMC) foram isoladas do sangue pela centrifugação de da densidade

e crioconservadas a -140°C.

As biópsias de pele foram transplantadas em camundongos BNX imunodeficientes no nível do panniculus carnosus (região atrás do pescoço), após a remoção cirúrgica da espessura total da pele dos camundongos. As biópsias de pele humanas substituíram a pele de camundongo parcialmente removida e foram cobertas com fita cirúrgica Op-site (Smith and Nephew, Hoofddorp, Países Baixos), seguido pela fita cirúrgica regular. Os camundongos foram verificados uma vez por dia no que diz respeito à integridade das ligaduras. Em caso de perda ou dano da bandagem, uma nova bandagem foi imediatamente aplicada.

Três semanas após o transplante, as biópsias foram bem integradas no tecido de camundongo; elas mantiveram todas as características humanas e não foram excessivas por tecido de camundongo. Antes que os camundongos fossem escolhidos a esmo ao longo dos diferentes grupos de tratamento as biópsias foram submetidas a triagem e registradas em relação a sua aparência geral, dano ou feridas e diferenças de cor da pele das biópsias pertencentes a um doador. Subseqüentemente, as únicas biópsias intactas foram incluídas e escolhidas a esmo no estudo como descrito acima. As biópsias não foram incluídas no caso de danos de enxerto/feridas ou no caso de uma biópsia que pertence a um doador extensivamente distinguido no que diz respeito à cor da pele. Subseqüentemente, estes transplantes integrados e incluídos foram injetados com PBMC ativado por superantígeno autólogo (vide abaixo).

Doador de células mononucleares do sangue periférico.

As PBMC dos doadores foram cultivadas por um período de 48 horas em IMDM (Biowhitaker, Lot. Não. 2MB0103) suplementadas com soro fetal de vitelo (10%) e estimuladas com 1 µg/ml de Staphylococcus Enterotoxin B (SEB; Toxin Technology, Florida, USA; Lot. No. 51497B), na presença de 40 U/ml de IL-2 recombinante humana (Preprotech Inc, fornecido por Tebu-bio cat.no. 200-02). As células foram cultivadas em placas de cultura de fundo chato com 24 cavidades (Costar). Após o cultivo por 48 horas, as células foram colhidas e lavadas duas vezes com PBS contendo 0,5% de

Albumina de Soro Bovino e apenas uma vez com PBS. As PBMC foram colocadas em suspensão novamente com PBS em 5 x $10^6$ células viáveis por ml e 100 µl foram injetados intradermicamente nos transplantes de pele autólogos para iniciar a diferenciação psoriática anormal.

Crioconservação de tecidos de biópsia e coleta de soro

Para obter os tecidos de biópsia humanos, os camundongos foram sacrificados por asfixia de $CO_2$. As biópsias foram extirpadas mantendo uma pequena ponta da pele do camundongo anexada. Imediatamente após a dissecação, as biópsias foram incorporadas no Tissue-Tec e congeladas em nitrogênio líquido a ser armazenado em recipientes de alumínio rotulados. Logo após o sacrifício, o sangue foi coletado em tubos não coagulados através de punção cardíaca. As amostras de sangue foram deixadas coagular em temperatura ambiente durante 45 minutos. Antes da centrifugação (1400 rpm durante 10 minutos em 4 ºC), as amostras foram colocadas em gelo de fusão durante uma hora. Imediatamente após a centrifugação os sobrenadantes do soro foram coletados e armazenados a -80ºC.

Avaliação histológica

O manchamento histológico foi realizado em tecidos crioconservados. Secções transversais Diagonais (10 µm), cobrindo todas as camadas da pele, foram preparadas (não mostradas: localizadas na parte de cima são o estrato córneo e epiderme da biópsia humana transplantada; o tecido de murino forma o fundamento para a pele humana transplantada).

Manchamento com hematoxilina para espessura epidérmica

Três seções selecionadas do centro da biópsia foram manchadas com hematoxilina-eosina e avaliadas em uma ampliação de 200 vezes. As medições de espessura foram realizadas utilizando o processamento de imagem e sistema de análise LeicaQWin (Leica Imaging Systems Ltd, version 2.2a, Cambridge, England). A espessura de aresta foi medida como um parâmetro representativo para o desenvolvimento das lesões. Se nenhuma aresta clara (ou inter-arestas) estiver presente, um valor médio é fornecido sobre a suposição de que a epiderme é uma aresta longa. A partir de cada seção o resultado de um mínimo de 4 observações microscópicas foi incluí-

do na espessura média. A partir disto, a espessura epidérmica média da ("corrigido") é calculada pela correção da amplificação microscópica.

Manchamento de HLA-DR

Duas secções por biópsia foram manchadas com HLA-DR anti-humano de camundongo (antígeno NCL-LN3 Nova Castra, lote 109207) e avaliadas em uma ampliação microscópica de 400. O número total de células positivas na epiderme em seções representativas foram determinadas e apresentadas como o número de células positivas HLA-DR per observação. A partir de cada seção o resultado de um mínimo de 4 observações microscópicas foi incluído no valor médio. [*Epidermal and dermal immunohistochemical stainings of lesional plaque psoriasis patients show increased expression of HLA-DR providing further support for the hypothesis that immunological mechanisms play an important role in the pathogenesis of psoriasis, see also Gotlieb et al, J.Exp.Med, 1986*].

Manchamento Ki-67 (proliferação de ceratinócito)

Duas seções foram manchadas com Ki-67 anti-humano de camundongo (BD Biosciences 556003) e avaliadas em uma ampliação microscópica de 400 x. O número total de células positivas na epiderme nas seções representativas foi determinado e apresentado como o número de células positivas Ki-67 por $mm^2$. Para cada seção os resultados de um mínimo de 4 observações microscópicas foram incluídos no valor médio. [*KI-67 is a cell cycle-specific protein which can detect actively dividing cells. In psoriatic skin lesions Ki-67 is a very specific marker for keratinocyte or epidermal hyper proliferation which is a key feature of psoriasis, see also Wraight et al, J. Invest. Dermatol, 1997*].

Manchamento CK-16 (expressão de 16 citoqueratinas)

Uma seção representativa foi manchada com Cytokeratin-16 anti-humano de camundongo (Chemicon, cat. no. CBL273, exp date Feb 2007) e avaliada em uma ampliação microscópica de 400x. A expressão de citoqueratina-16 na epiderme foi determinada de acordo com um método de pontuação da avaliação da distribuição de CK-16 em um escala de 3 pontos descrita por de Jongh et al; J. Invest Dermatol 125:1163-1173, 2005. De a-

cordo com escala de pontuação, uma pontuação de 0 representa ausência de CK-16, uma pontuação de 1 representa distribuição desigual de CK-16 e uma pontuação 2 representa uma distribuição contínua de CK-16. Para cada seção de biópsia o comprimento total da epiderme foi avaliado. As pontuações cumulativas e a incidência por grupo foram determinadas e apresentadas. [*The regulation of keratinocyte differentiation is particularly important in psoriasis and one of the important markers for hyperproliferative and differentiating psoriatic skin is cytokeratin-16, see also Bigliardi et al, J. Invest. Dermatol, 2000*].

Análises estatísticas

As análises estatísticas básicas foram realizadas como se seguem: a importância das diferenças entre todos os grupos de tratamento foi testada usando análise de variância (ANOVA). Cada ANOVA significativa foi seguida por testes *post hoc* LSD (Diferença Significativa Mínima) para determinar a importância da diferença entre cada grupo de tratamento e o grupo controle. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando programa de software estatístico SPSS 11.5 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Interpretação dos valores p:

- $p < 0,05$ indica diferenças estatisticamente significativas
- $0,05 \leq p \leq 0,10$ é considerado como uma tendência
- $p > 0,10$ foi considerado não significativa

Os camundongos tratados com PBS são apresentados como "Veículo". Os camundongos tratados com 20 mg/kg de ciclosporina A são apresentados como "CsA (20 mg/kg)".

Transplante

Para este estudo, 24 pacientes com psoríase, cada um doou três biópsias de pele não lesionada e 26 a 30 ml de sangue. Assim, um total de 72 biópsias foi transplantado. Três semanas após o transplante 11 transplantes foram considerados inadequados para inclusão no estudo. Portanto, um total de 61 camundongos (85%) pode ser incluído neste estudo. Para a escolha a esmo e critérios de inclusão vide também "2.2 study design" e "2.5 preparations of the skin biopsies and transplantation".

Devido ao manchamento de fundo (mesmo após repouso nas seções de tecido novo recém-extraído), algumas das lâminas manchadas para HLA-DR não puderam ser avaliadas. Os controles de manchamento não mostraram nenhuma irregularidade (vide abaixo) e, infelizmente, não há qualquer explicação para este fato. Os controles que foram utilizados eram uma seção de tecido de referência que mostrou resultados similares como nas experiências anteriores, uma seção de tecido de referência de pele lesionada que apresentou expressão de HLA-DR correspondente como nas experiências anteriores e finalmente, por lâmina histológica, uma seção de tecido com um controle de anticorpo de isotipo IgG2b foi incluída a qual não apresentou nenhum resultado positivo falsos ou manchamento de fundo elevado.

Características do modelo de teste

A avaliação histológica de camundongos tratados com veículo, 21 dias após a injecção de PBMC ativadas com SEB, mostrou uma espessura média da epiderme de 176,8 ± 28,1, 29,7 ± 8,0 células positivas Ki-67 por $mm^2$ na epiderme, 14,9 + 7,1 células positivas de HLA-DR por $mm^2$ na epiderme e uma pontuação cumulativa de 6 para a expressão de CK-16 na epiderme.

O tratamento com CsA resultou em uma redução significativa da espessura de epiderme em 105,5 ± 11,3 µm (p = 0,003) em comparação com os camundongos tratados com veículo. Estes resultados correspondem a uma redução de 40% em comparação com o veículo. O número de células positivas Ki-67 diminuíram significativamente em 15,6 ± 4,3 per $mm^2$; p = 0,027.

O número de células positivas HLA-DR diminuíram em 9,6 ± 4,6 per $mm^2$, mas este efeito não chegou a a alcançar significado estatístico. A expressão de CK-16 diminuiu para uma pontuação cumulativa de 3, mas esta não atingiu significância. Nenhum dos tratamentos mostrou uma mudança significativa no peso corporal comparado com o veículo.

Efeito do tratamento com anticorpo

Espessura Epidérmica

O tratamento de anticorpo anti-IL23p19 apresentou supressão significativa do espessamento epidérmico (120,0 ± 17,4 µm) em uma dosagem de 10 mg/kg (p = 0,020).

Ki-67

O tratamento IP com anticorpo anti-IL23p19 em uma dosagem de 10 mg/kg resultou em uma supressão significativa da proliferação de ceratinócito ($p = 0,010$).

HLA-DR

O tratamento não foi associado com a supressão significativa de HLA-DR.

CK-16

Embora a expressão de CK-16 tenha sido claramente associada com um efeito inibidor seguinte ao tratamento com CsA e o anticorpo anti-IL23p19, o tratamento não atingiu significância estatística.

Conclusões

Neste estudo, o anticorpo anti-IL23p19 administrado intraperitonealmente, uma vez por semana, em uma dose de 10 mg/kg foi avaliado com relação aos seus efeitos sobre o desenvolvimento da psoríase na pele não lesionada de pacientes com psoríase transplantados para camundongos imunodeficientes.

O tratamento foi iniciado 1 dia antes da injeção das células T ativadas autólogas e continuou até dia 21 pós injeção de PBMC. O tratamento com PBS (veículo) serviu como controle negativo. A ciclosporina A (20 mg/kg, oral) serviu como o controlo positivo. O peso corporal, espessura epidérmica, proliferação de ceratinócito (células positivas Ki-67), pontuação de citoqueratina-16 e o número de células positivas HLA-DR foram avaliados.

O tratamento com CsA significativamente suprimiu o espessamento epidérmico e proliferação de ceratinócito (células positivas Ki-67) em 40% ($p = 0,007$) e 53% ($p = 0,027$), respectivamente, em comparação com o controlo de veículo. O tratamento com o anticorpo anti-IL23p19 em 10 mg/kg apresentou um efeito significativo sobre a supressão do espessamento da epiderme em 32% e proliferação de ceratinócito (Ki-67) em 41%, em comparação com o controlo de veículo.

Nenhum dos tratamentos apresentou inibição significativa de expressão HLA-DR ou CK-16. A falta de eficácia do CsA ou a qualquer um

dos compostos na expressão HLA-DR poderia ser associada com uma atividade imunológica insuficiente em geral como determinado pela expressão HLA-DR no momento em que os camundongos foram sacrificados, 21 dias após a injeção de PBMC. Comparados com os estudos anteriormente realizados, os resultados mostram menos expressão HLA-DR sem uma explicação substancial. Além disso, nenhum dos compostos mostrou um efeito sobre o peso corporal. O peso corporal foi avaliado na perspectiva do bem-estar do animal. A perda de peso ou inibição do crescimento é um efeito colateral comum de tratamento de murino com CsA ou agentes imunossupressores, em geral. De modo geral, o tratamento com o anticorpo anti-IL23p19 parece ser uma abordagem promissora no tratamento da psoríase.

Tabela 11

| Tratamento | Espessura da epiderme (µm) Média ± sem | **KI-67 (1)** média ± sem | **HLA-DR (1)** média ± sem | Pontuação cumulativa e incidência de CK-16 **(2)** | Peso corporal final (% do peso inicial) + SD |
|---|---|---|---|---|---|
| Veículo | 176,8 ± 28,1 | 29,7 ± 8,0 | 14,9 ± 7,1 | 6 (4/7) | 109,9 ± 0,7 |
| CsA (20 mg/kg) | 105,5 ± 11,3 $ | 15,6 ± 4,3$ | 9,6 ± 4,6 | 3 (2/7) | 105,9 ± 2,1 |
| anticorpo anti-IL23p19 (10 mg/kg) | 120,0 ± 17,4 & | 12,3 ± 3,7 & | 7,9 ± 4,9 | 3 (2/6) | 112,3 ± 1,0 |

1. Número de células positivas per $mm^2$ de epiderme 2. Sistema de pontuação histológica de acordo com de Jongh et al; J. Invest Dermatol 125:1163-1173, 2005.

Espessura da Epiderme:

ANOVA P=0.010

Testes *post hoc* LSD:

$ p = 0,003 comparado com o Veículo

* p = 0,001 comparado com o Veículo

** p = 0,025 comparado com o Veículo

# p < 0,001 comparado com o Veículo

## p = 0,063 comparado com o Veículo

& p = 0,020 comparado com o Veículo

Ki-67:

ANOVA P = 0,009

Testes *post hoc* LSD:

$ p = 0,027 comparado com o Veículo

* p = 0,008 comparado com o Veículo

** p = 0,048 comparado com o Veículo

# p = 0,007 comparado com o Veículo

## p = 0,031 comparado com o Veículo

& p = 0,010 comparado com o Veículo

HLA-DR:

ANOVA P = 0,768

CK-16:

ANOVA P = 0,573

PESO CORPORAL:

ANOVA P = 0,691

Ficará claro que a invenção pode ser praticada de outra maneira do que como particularmente descrita na descrição anterior e exemplos. Numerosas modificações e variações da presente invenção são possíveis na compreensão dos ensinamentos acima e, portanto, estão dentro do escopo das reivindicações anexas.

Tabela 1: Especificidade de Ligação dos Fabs Candidatos

| | Especificidade ELISA: antígenos em solução para Fabs imobilizados | | | | | Biacore (modo de captura de Fab) $K_D$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| MORO | IL-CNT | IL-R& | IL-CNT | IK-R& | P4 R& | IL-CNT | IL-CNT |
| 408 | + | n | - | n | n | 1 | Não |
| 408 | + | n | - | n | n | 3 | nenhuma ligação;n: |
| 418 | + | n | - | n | n | 7 | não |
| 419 | + | n | - | n | n | 1 | não |
| 420 | + | + | - | - | - | 14 | ligação insignificante |
| 421 | + | + | - | - | - | 4 | ligação insignificante |
| 423 | + | + | - | - | - | 6 | ligação insignificante |
| 449 | + | + | - | - | - | 19 | Não |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 464 | + | + | - | - | - | 1 | Não |
| 464 | + | + | - | - | - | 7 | Não |
| 465 | + | + | - | - | - | 16 | Não |
| 465 | + | + | - | - | + | 1 | Não |
| 465 | + | + | - | - | - | 1 | Não |
| Fab12 | + | + | + | + | + | 1 | 0 |

Tabela 2: IC50 de Fabs Candidatos no Ensaio de hrIL-23/hIL-23R

| MOR0# | IC50[nM] |
|---|---|
| 4083 | 4,6+/-3,9 |
| 4086 | nenhuma inibição completa |
| 4185 | 280 |
| 4190 | 4,8+/-2 |
| 4205 | 38 |
| 4217 | 16 |
| 4235 | 190 |
| 4491 | 10<br>~50% de inibição |
| 4647 | 2,1 |
| 4649 | 0,2+/-0,2 |
| 4651 | 36 |
| 4655 | 286 |
| 4658 | 0,7 |
| IL-23R-Fc | 1,8+/-1,8 |

Tabela 3: Caracterização dos Anticorpos Parentais em um Formato mAb

| mAb | ligação de IL-23 | ensaios de ligação ao receptor bioquímico | | | ensaio pS-TAT3 | bio ensaio de IL-12 em NK92MI | ensaio da produção de IL-17 induzida por IL-23 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| MOR# | especificidade da subunidade de hrIL-23 | IL-12/IL-12Rb1 | IL-23/IL-12Rb1 | IL-23/IL-23R | resultados na concentração observada | IFNg em células NK92MI | neutralização de hrIL-17 | neutralização de IL-23 humana nativa | neutralização de IL-23 cino nativa |
| 4083 (k) | P19 | - | - | + | +/- em 10<br>+ em 20 | - | + | + | + |
| 4190 (k) | P19 | - | - | + | + em 10 | - | + | + | + |
| 4649 (λ) | P19 | - | - | + | +/- em 1<br>+ em 10 | - | + | + | + |
| 4658 (λ) | P19 | - | - | +/- | -/+ em 10 | - | -/+ | + | + |
| 4205 | P19 | - | - | -/+ | + em 10 | N/d | - | N/d | N/d |
| 4217 | P19 | - | - | -/+ | - em 10 | N/d | -/+ | N/D | N/D |
| 4185 | P19 | - | - | -/+ | - EM 7 | N/D | - | N/D | n/D |
| 4235 | P19 | - | - | -/+ | - EM 10 | N/D | - | N/D | N/D |
| 4090 | P19 | - | - | - | N/d | N/d | - | N/d | N/d |
| 4647 | P19 | - | - | +/- | - em 10 | - | - | N/d | N/d |
| 4491 | P19 | - | - | +/- | - em10 | - | - | N/d | N/d |
| 4651 | P19 | - | - | +/- | - em 10 | - | - | N/d | N/d |
| 4085 | P19* | - | - | - | - em 3 | - | - | N/d | N/d |
| 4086 | P19* | - | - | - | - em 5 | N/d | +*** | N/d | N/d |
| 4655 | P19* | - | - | - | - em 10 | - | +*** | N/d | N/d |
| 4193 | IL-12/IL-23p40 | - | - | -/+ | - em 6 | + | + | N/d | N/d |
| 4201 | IL-12/IL-23p40 | - | +, nenhuma titulação | -/+ | N/d | + | + | N/d | N/d |
| 4704 | IL-12/IL-23p40 | -/+** | -/+ | -/+ | + em 10 | + | + | N/d | N/d |

| Símbolo | Descrição |
|---|---|
| - | nenhuma inibição |
| -/+ | inibição insignificante |
| +/- | fraca, inibição incompleta |
| + | inibição |
| * | não se ligou ao hrIL-23 ligado sem His-tag (da R&D Systems) |
| ** | melhores inibições com R&D IL-12, do que com CNTO IL-12 |
| *** | causou morte celular em concetração elevada |
| N/d | nada feito |

Tabela 4A: Seqüências CDR da Região Hc V de Anticorpos Candidatos

| Clone # | VH | H-CDR1 (SEQ ID NO:) | H-CDR2 (SEQ ID NO:) | H-CDR3 (SEQ ID NO:) | Comentários |
|---|---|---|---|---|---|
| **4083** | 1A | NYAIS (1) | GIIPMFGYANYAQKFQG (7) | DIYAGMDV (40) | Impacto primário |
| 5028 | | | GIIP[redacted]FG[redacted]THYAQKFQG (8) | | Maturação por afinidade |
| **4190** | 1A | SNYIS (2) | GIIPIFGHANYAQKFQG (9) | SKKGMYGG WTYPLMMF-DL (41) | Impacto primário |
| 5033 | | | [redacted]YAQKFQG (10) | | Maturação por afinidade |
| 5034 | | | [redacted]YAQKFQG (11) | | Maturação por afinidade |
| 5036 | | | [redacted]YAQKFQG (12) | | Maturação por afinidade |
| 5037 | | | [redacted]YAQKFQG (13) | | Maturação por afinidade |
| 5038 | | | [redacted]YAQKFQG (14) | | Maturação por afinidade |
| 5040 | | | [redacted]YAQKFQG (15) | | Maturação por afinidade |
| 4190x | | | $Z_1Z_2Z_3Z_4Z_5Z_6Z_7Z_8Z_9Z_{10}$YA QKFQG!! (16) | | Prognosti-cado |
| **4205** | 5 | NYWIS (3) | WIRPGDSDTRYSPSFEG (17) | HYYGMDY (42) | Impacto primário |
| **4217** | 3 | *sywit (4)* | VSYISSSGSSTY-YADSVKG (18) | GTFWSFGNY FAN (43) | Impacto primário |
| **4649** | 5 | NYWIG (5) | IIDPSNSYTNYSPSFQG (19) | WYYKPFDV (44) | Impacto primário |
| 4649r | | | IIDPSNSYTRYSPSFQG (20) | | Δ sítio de glicosilação |
| $4649r^E$ | | | IIDPSNSYTRYSPSFQG | | Substitui-ções acres-cidas de E1 |
| 4649d | | | IIDPSNSYTDYSPSFQG (21) | | Δ sítio de glicosilação |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 5041 | | | ISPDGSVTWYSPSFQG (22) | | Maturação por afinidade |
| 5042 | | | ISPDGSSTWYSPSFQG (23) | | Maturação por afinidade |
| 5043 | | | FISPDGSHTWYSPSFQG (24) | | Maturação por afinidade |
| 5044 | | | ISPDGSTTWYSPSFQG (25) | | Maturação por afinidade |
| 5045 | | | ISPDGSATWYSPSFQG (26) | | Maturação por afinidade |
| 5046 | | | IDPVSSWTKYSPSFQG (27) | | Maturação por afinidade |
| 4649x | | | I-IX$_1$PX$_2$X$_3$SX$_4$TX$_5$YSPSFQG** (28) | | prognostica-do |
| **4658** | 3 | SFGMS (6) | NISSSGSS—TYYADSVKG (29) | YWGTP-YLMQFDN (45) | Impacto primário |
| 5039 | | | NIEHKYNATYA-ASVKG (30) | | Maturação por afinidade |
| 5047 | | | NIEHKYLGYATSYA-ASVKG (146) | | Maturação por afinidade |
| 5048 | | | NIEHKGTTYA-AGVKG (31) | | Maturação por afinidade |
| 5049 | | | GIEHKSYTTYA-ASVKG (32) | | Maturação por afinidade |
| 5050 | | | SIEHKTGTTYA-APVKG (33) | | Maturação por afinidade |
| 5051 | | | IEHKTLYA-ASVKG (34) | | Maturação por afinidade |
| 5052 | | | SIEHKTYA-ASVKG (35) | | Maturação por afinidade |
| 5053 | | | NIGTTTYA-ASVKG (36) | | Maturação por afinidade |
| 5054 | | | GIEHKYSYATLYA-ASVKG (37) | | Maturação por afinidade |
| 5055 | | | NIEHKGYATVYA-ASVKG (38) | | Maturação por afinidade |
| 5056 | | | SIEHKYSYATYA-AGVKG (39) | | Maturação por afinidade |
| | | | | | |

Todos os anticorpos expressos como Fabs possuem Q no rsíduo 3 em Vh, enquanto quando expressos como mAbs, a maioria tinha E no resíduo 3.

** $X_1$ é D or S; $X_2$ é S, V, D, ou T; $X_3$ é, S, ou G; $X_4$ é Y, W, T, H, V, S, ou A; $X_5$ é N, D, R, K, ou W

!! $Z_1$ é G, I, ou L; $Z_2$ é I ou S; $Z_3$ é I, P, N, ou D; $Z_4$ é P, G, ou A; $Z_5$ é I, M, P, T, H, N, ou V; $Z_6$ é F, I, G, ou L; $Z_7$ G ou I; $Z_8$ é H, Y, N, ou G; $Z_9$ é A ou T; $Z_{10}$

é N, W, ou Y

++ $a_1$ é S ou A; $a_2$ é T ou G; $a_3$ é P ou L; $a_4$ é S ou N; $a_5$ é S, M, ou L; $a_6$ é I ou V

## $b_1$ é T, F, D, ou S; $b_2$ é S, I, A, T, R, ou L; $b_3$ é N, T, L, S, ou G; $b_4$ é T, Y, S, ou I;

$b_5$ é P ou L; $b_6$ é F ou P

Tabela 4B: Seqüências CDR da Região Lc V de Anticorpos Candidatos

| Clone # | VL | L-CDR1 (SEQ ID NO:) | L-CDR2 (SEQ ID NO:) | L-CDR3 (SEQ ID NO:) | Comentários |
|---|---|---|---|---|---|
| **4083** | □3 | RASQSVLGNYLA (46) | GASSRAT (52) | HQYGSISTT (58) | Impacto primário |
| 5267 | | | | QQYSHLLIT (59) | Maturação por afinidade |
| 5268 | | | | QQYSHISLT (60) | Maturação por afinidade |
| 5269 | | | | QQFAHILLT (61) | Maturação por afinidade |
| **4190** | □3 | RASQSVSSNYLA (47) | YASRRAT (53) | QQTSNTPFT (62) | Impacto primário |
| $4190^{EV}$ | | | | QQTSNTPFT | Substituições acrescidas de E1 & V86 |
| 5029 | | | | QQFITYLPT (63) | Maturação por afinidade |
| 5030 | | | | QQDALSPFT (64) | Maturação por afinidade |
| 5031 | | | | QQDRGTPFT (65) | Maturação por afinidade |
| 5032 | | | | QQSLNIPFT (66) | Maturação por afinidade |
| 5057 | | | | QQDTSSPFT (67) | Maturação por afinidade |
| 4190x | | | | QQ$b_1b_2b_3b_4b_5b_6$FT## (68) | Prognosticado |
| **4205** | λ1 | SGSSSNIGSYYVN (48) | GNTHRPS (54) | QTYASLGP-GEV (69) | Impacto primário |
| **4217** | κ1 | RASQSIFYNLA (49) | GASNRAT (55) | QQYSSEPVT (70) | Impacto primário |
| **4649** | λ1 | TGSSSNIGSGYD-VH (50) | GNSKRPS (56) | SSWT--PSSVV (71) | Impacto primário |
| 5058 | | | | SSWTDTPN-MIV (72) | Maturação por afinidade |
| 5059 | | | | ASWTDGLS-LVV (73) | Maturação por afinidade |
| $5059^{QS}$ | | | | ASWTDGLS-LVV | Substituições acrescidas de Q1, S2 |
| 4649x | | | | $a_1$SWTD$a_2a_3a_4$ $a_5a_6$V++ (74) | Prognosticado |

| **4658** | λ2 | TGTSSDVGGYNSVS (51) | SVSSRPS (57) | SSYDTNK-PLVV (75) | Impacto primário |
|---|---|---|---|---|---|
| 5060 | | | | GSYDVY-GRFYV (76) | Maturação por afinidade |
| 5061 | | | | SSYYFYL-QRIV (77) | Maturação por afinidade |
| 5062 | | | | QTYYFSYSGPV (78) | Maturação por afinidade |
| 5063 | | | | GSWDPIFS-YEV (79) | Maturação por afinidade |

Tabela 4C: Anticorpos produzidos, purificados e avaliados

| nome Ab | **VH** | **VL** | **Fab*#** | **MAb*** | comentários |
|---|---|---|---|---|---|
| **4083** | 4083 | 4083 | x | x | |
| 5028 | 5028 | 4083 | x | x | |
| 5267** | 4083 | 5267 | x | (em progresso) | |
| 5268** | 4083 | 5268 | x | (em progresso) | |
| 5269** | 4083 | 5269 | x | (em progresso) | |
| **4190** | 4190 | 4190 | x | x | |
| 5033 | 5033 | 4190 | | x | |
| 5034 | 5034 | 4190 | x | x | |
| 5036 | 5036 | 4190 | x | x | |
| 5037 | 5037 | 4190 | | x | |
| 5038 | 5038 | 4190 | x | x | |
| 5040 | 5040 | 4190 | | x | |
| $5040^{Q/EV}$ | 5040 | $4190^{EV}$ | | x | Substituição de volta Vh-Q3 em mAb |
| 5029** | 4190 | 5029 | | x | |
| 5030** | 4190 | 5030 | | x | |
| 5031** | 4190 | 5031 | | x | |
| 5032** | 4190 | 5032 | | x | |
| 5057** | 4190 | 5057 | | x | |
| **4205** | 4205 | 4205 | x | x | |
| **4217** | 4217 | 4217 | x | x | |
| **4649** | 4649 | 4649 | x | x | |
| 5041 | 5041 | 4649 | x | x | |
| 5042 | 5042 | 4649 | x | x | |
| 42-58 | 5042 | 5058 | | x | Par 5058 VL com VH desprovido de sítio de glicosilação CDR2 |
| 42-59 | 5042 | 5059 | | x | Par 5059 VL com VH desprovido de sítio de glicosilação CDR2 |
| 5043 | 5043 | 4649 | x | x | |
| 5044 | 5044 | 4649 | x | x | |
| 5045 | 5045 | 4649 | x | x | |
| 45-58 | 5045 | 5058 | | x | Par 5058 VL com VH desprovido de sítio de glicosilação CDR2 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 45-59 | 5045 | 5059 | | x | Par 5059 VL com VH desprovido de sítio de glicosilação CDR2 |
| 5046 | 5046 | 4649 | x | x | |
| 5058 | 4649 | 5058 | x | x | |
| 5059 | 4649 | 5058 | x | x | |
| 3758 | 4649r | 5058 | | x | |
| 3759 | 4649r | 5059 | | x | |
| $3759^{EQ/Q}_{S}$ | $4649r^{E}$ | $5059^{QS}$ | | x | Substituição de volta Vh-Q3 em mAb |
| 3658 | 4649d | 5058 | | x | |
| 3659 | 4649d | 5059 | | x | |
| **4658** | 4658 | 4658 | x | x | |
| 5039 | 5039 | 4658 | x | x | |
| [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | |
| 5048 | 5048 | 4658 | x | x | |
| 5049 | 5049 | 4658 | x | x | |
| 5050 | 5050 | 4658 | x | x | |
| 5051 | 5051 | 4658 | | x | |
| 5052 | 5052 | 4658 | x | x | |
| 5053 | 5053 | 4658 | x | x | |
| 5054 | 5054 | 4658 | | x | |
| 5055 | 5055 | 4658 | x | x | |
| 5056 | 5056 | 4658 | x | x | |
| 5060 | 4658 | 5060 | x | x | |
| 5061 | 4658 | 5061 | x | x | |
| 5062 | 4658 | 5062 | x | x | |
| 5063 | 4658 | 5063 | x | x | |

* Exceto como indicado nos na caixa de "comentários", a posição 3 na cadeia pesada foi Q nos Fabs e E nas mAbs.

** As cadeias leves kappa maduras por afinidade de 4083 e 4190 contêm uma substituição de T para V em relação às origens em FW3 (FAVYYC). V é um resíduo da linha germinativa nesta posição.

# Vários Fabs listados como "maduros por afinidade" apresentaram alguama agregação durante a purificação e assim não foram avaliados. Eles foram anteriormente avaliados em tantos impactos quanto amostras brutas.

Tabela 5: Caracterização de Fabs Maduros por Afinidade: especificidade, neutralização de receptor, e afinidade.

| MORO# | biblioteca | $K_D$[pM] SET (n:1) | IL-23/IL-23R $IC_{50}$ [nM] (n:1-4) | IL-23/IL-12Rβ1 | IL-12(R&D)/IL-12Rβ1 | especificidade ELISA | FACS (TALL-104) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4083 | - | 1600 | 7,1±8,3 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5028 | H-CDR2 | 133 | 0,43±0,58 | O.K. | O.K. | O.K. | - |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5267 | L-CDR3 | 2000 | 0,14 | O.K. | O.K. | n.d. | n.d. |
| 5268 | | 660 | 0,15 | O.K. | O.K. | n.d. | n.d. |
| 5269 | | 960 | 0,2 | O.K. | O.K. | n.d. | n.d. |
| 4190 | - | 4400 | 1,3±1,5 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5034 | H-CDR2 | 126 | 0,4±0,15 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5036 | | 32 | 0,32±0,02 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5038 | | 38 | 0,17±0,05 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 4649 | - | 1100 | 1,2 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5041 | H-CDR2 | 41 | 0,07±0,04 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5042 | | 4 | 0,06±0,03 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5043 | | 18 | 0,05±0,03 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5044 | | 43 | 0,05±0,04 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5045 | | 9 | 0,05±0,02 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5046 | | 23 | 0,08±0,01 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5058 | L-CDR3 | 33 | 0,11±0,08 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5059 | | 93 | 0,69±0,72 | O.K. | O.K. | O.K. | - |

Tabela 6: Caracterização de Fabs Maduros por Afinidade: especificidade, neutralização de receptor, e afinidade.

| MORO# | biblioteca | $K_D$[pM] SET (n:1) | IL-23/IL-23R $IC_{50}$ [nM] (n:1-4) | IL-23/IL-12Rβ1 | IL-12(R&D)/IL-12Rβ1 | especificidade ELISA | FACS (TALL-104) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4658 | - | 4300 | 14 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5039 | H-CDR2 | 27 | 0,1±0,09 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5047 | | 36 | 0,13±0,1 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5048 | | 20 | 0,1±0,1 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5049 | | 7 | 0,39±0,62 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5050 | | 23 | 0,89±1,15 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5052 | | 10 | 0,58±0,74 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5053 | | 27 | 0,98±1,3 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5055 | | 29 | 0,79±1,0 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5056 | | 65 | 0,52±0,68 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5060 | L-CDR3 | 142 | 1,0±1,14 | O.K. | O.K | O.K | - |
| 5061 | | 58 | 1,25±1,49 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5062 | | 98 | 1,34±1,5 | O.K. | O.K. | O.K. | - |
| 5063 | | 69 | 0,32±0,25 | O.K. | O.K. | O.K. | - |

Table 7: Caracterização de Anticorpos Maduros por Afinidade em Formato mAb: Inibição da produção de IL-17.

Inibição da ligação de hrIL-23 à proteína de fusão IL-23R-Fc imobilizada. Valores IC50 das curvas de titulação.

Os mAbs (vide Tabela 4C) são listados em ordem de potência decrescente. Os anticorpos maduros são agrupados de acordo com suas respectivas origens: rosa (5028 é de 4083); (5040, 5038, 5029, 5030, 5057,

5036, 5032, 5034, 5033, e 5037 são com 4190); (5042, 5045, 5058, 5041, 5059, 5044, 5043, 5046, e 4083 são com 4649); (5054, 5053, 5049, 5048, 5052, 5047, 5050, 5051, 5055, 5056, 5039, 5063, 5062, e 5061 são com 4658). MAb 23A é um IL-23 mAb anti-humano de murino de referência.

| mAb | IC50, Ug/ml |
|---|---|
| 5042 | 0,00127 |
| 5045 | 0,001396 |
| 5040 | 0,002641 |
| 5058 | 0,002847 |
| 5041 | 0,003007 |
| 5054 | 0,003227 |
| 5053 | 0,00493 |
| 5059 | 0,01062 |
| 5044 | 0,01414 |
| 5043 | 0,01439 |
| 5049 | 0,01616 |
| 5048 | 0,01624 |
| 5052 | 0,0178 |
| 5047 | 0,02342 |
| 5050 | 0,02766 |
| 5038 | 0,02815 |
| 5046 | 0,04281 |
| 5029 | 0,04907 |
| mAb23A | 0,05415 |
| 5030 | 0,06458 |
| 5051 | 0,0663 |
| 5055 | 0,09155 |
| 5056 | 0,09198 |
| 5028 | 0,1039 |
| 5057 | 0,1103 |
| 5039 | 0,1606 |
| 5036 | 0,1702 |
| 5032 | 0,1716 |
| 5034 | 0,1854 |
| 5063 | 0,1981 |
| 5062 | 0,1989 |
| 5031 | 0,2149 |
| 4190 | 0,218 |
| 4669 | 0,2758 |

| | |
|---|---|
| 5033 | 0,2834 |
| 5061 | 0,3087 |
| 5037 | 0,3364 |
| 4083 | 1,395 |
| 4658 | 1,956 |

Tabela 8 - Seqüências de IL-23p19 mAbs iniciais e seus derivados maduros e planejados.

família MOR04083.

(SEQ ID NOS: 80 & 81)

1

117

**4083 Vh** (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGYANYAQKFQGRVTITADEST
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARDIYAGMDVWGQGTLVTVSS

5028 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPvFGfthYAQKFQGRVTITADEST
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARDIYAGMDVWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NOS: 82-85)

1

108

**4083 Vk** (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVLGNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCHQYGSISTTFGQGTKVEIK

5268 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVLGNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCqQYshISLTFGQGTKVEIK

5267 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVLGNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCqQYshliITFGQGTKVEIK

5269 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVLGNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSGTDF
TLTISSLEPEDFAVYYCqQfahIllTFGQGTKVEIK

família MOR04190

(SEQ ID NOS: 86-92)

1

127

**4190 Vh** (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSNYISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGHANYAQKFQGRVTITADEST
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGGWTYPLMMFDLWGQGTLVTVSS

5033 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSNYISWVRQAPGQGLEWMGiIIPpiGnAwYAQKFQGRVTITADEST
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGGWTYPLMMFDLWGQGTLVTVSS

5040 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSNYISWVRQAPGQGLEWMGispgtginAyYAQKFQGRVTITADEST
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGGWTYPLMMFDLWGQGTLVTVSS

5038 Vh (1) QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSNYISWVRQAPGQGLEWMG-
InahlGgtwYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGGWTYPLMMFDLWGQGTLVTVSS

5034 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSNYISWVRQAPGQGLEWMGlIdPnFGgAyYAQKFQGRVTITADEST
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGGWTYPLMMFDLWGQGTLVTVSS

5036 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSNYISWVRQAPGQGLEWMGlIdPvFGgAyYAQKFQGRVTITADEST
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGGWTYPLMMFDLWGQGTLVTVSS

5037 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSNYISWVRQAPGQGLEWMGlIdPmFGgAyYAQKFQGRVTITADEST
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGGWTYPLMMFDLWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NOS: 93-98)

1

108

**4190 Vk** (1)
DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFATYYCQQTSNTPFTFGQGTKVEIK
4190$^{EV}$Vk (1)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAvYYCQQTSNTPFTFGQGTKVEIK
5029 Vk (1)
DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAvYYCQQfitylpTFGQGTKVEIK
5030 Vk (1)
DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAvYYCQQdalsPFTFGQGTKVEIK
5031 Vk (1)
DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAvYYCQQdrgTPFTFGQGTKVEIK
5032 Vk (1)
DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAvYYCQQslNiPFTFGQGTKVEIK

## MOR04205

(SEQ ID NO: 99)
1
116
**4205 Vh** (1)
QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWISWVRQAPGKGLEWMGWIRPGDSDTRYSPSFEGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARHYYGMDYWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 100)
1
110
**4205 Vl** (1)
DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGSYYVNWYQQLPGTAPKLLIYGNTHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI
TGLQSEDEADYYCQTYASLGPGEVFGGGTKLTVL

## MOR04217

(SEQ ID NO: 101)
1
121
**4217 Vh** (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWITWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSSTYYADSVKGRFTISRDNSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGTFWSFGNYFANWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 102)
1
107
**4217 Vk** (1)
DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIFYNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATGVPARFSGSGSGTDFTLTIS
SLEPEDFATYYCQQYSSEPVTFGQGTKVEIK

## família MOR04649

(SEQ ID NOS: 103-112)
1
117
**4649 Vh** (1)
QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSNSYTNYSPSFQGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARWYYKPFDVWGQGTLVTVSS
4649d Vh (1)
QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSNSYTdYSPSFQGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARWYYKPFDVWGQGTLVTVSS
4649r Vh (1)
QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSNSYTrYSPSFQGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARWYYKPFDVWGQGTLVTVSS
4649r$^{E}$ Vh (1)
eVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSNSYTrYSPSFQGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARWYYKPFDVWGQGTLVTVSS
5046 Vh (1)
QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPvsSwTkYSPSFQGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARWYYKPFDVWGQGTLVTVSS
5044 Vh (1)
QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIsPSgStTwYSPSFQGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARWYYKPFDVWGQGTLVTVSS
5043 Vh (1)
QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGfIsPdgShTwYSPSFQGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARWYYKPFDVWGQGTLVTVSS

5041 Vh (1)
QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIsPtgSvTwYSPSFQGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARWYYKPFDVWGQGTLVTVSS
5042 Vh (1)
QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIsPtgSsTwYSPSFQGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARWYYKPFDVWGQGTLVTVSS
5045 Vh (1)
QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIsPtgSaTwYSPSFQGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARWYYKPFDVWGQGTLVTVSS

* Consensus N-linked glycosylation site in 4649 Vh

(SEQ ID NOS: 113-116)

1
111
**4649 VL** (1)
DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGSGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA
ITGLQSEDEADYYCSSWT--PSSVVFGGGTKLTVL
5058 VL (1)
DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGSGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA
ITGLQSEDEADYYCSSWTdtPnmiVFGGGTKLTVL
5059 VL (1)
DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGSGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA
ITGLQSEDEADYYCaSWTdglSlVVFGGGTKLTVL

5059$^{QS}$VL (1)

qsVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGSGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSKRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAITGLQSEDEADYYCaSWTdglSlVVFGGGTKLTVL

## família MOR04658

(SEQ ID NOS: 117-127)

1
123
**4658 Vh** (1) QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNISSS--
GSSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS
5048 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIehkfmGytTYYAagVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS
5050 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSsIehkytGytTYYAapVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS
5053 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIehkytsytTYYAaSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS
5039 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIehkylnyaTYYAaSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS
5055 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIehkylGyaTvYAaSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS
5056 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSsIehkylsyaTYYAagVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS
5052 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSsIehkylsytTfYAaSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS
5049 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSgIehkylsytThYAaSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS
5051 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSqIehkylsytTlYAaSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS
5054 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSgIehkylsyaTlYAaSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 147)

5047 Vh (1)
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIehkylGyaTsYAaSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NOS: 128-132)

```
          1
111
4658 VL   (1)
          DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIYSVSSRPSGVSNRFSGSKSGNTASLT
ISGLQAEDEADYYCSSYDTNKPLVVFGGGTKLTVL
5061 VL   (1)
          DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIYSVSSRPSGVSNRFSGSKSGNTASLT
ISGLQAEDEADYYCSSYyfylqriVFGGGTKLTVL
5062 VL   (1)
          DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIYSVSSRPSGVSNRFSGSKSGNTASLT
ISGLQAEDEADYYCqtYyfsysgpVFGGGTKLTVL
5060 VL   (1)
          DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIYSVSSRPSGVSNRFSGSKSGNTASLT
ISGLQAEDEADYYCgSYDvygrfyVFGGGTKLTVL

5063 VL       (1)

          DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIYSVSSRPSGVSNRFSGSKSGNT

ASLTISGLQAEDEADYYCgSwDpifsyeVFGGGTKLTVL
```

## Tabela 9 – Seqüências de Nucleotídeo

IL-23 p19 5040$^{Q/EV}$

VH-GCE (SEQ ID NO:133): (seqüência de aminoácido VH é 5040 Vh)

```
Q  V  Q  L   V  Q  S   G  A  E   V  K  K  P   G  S  S  ·
       1 CAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAGC CTGGGTCCTC
         GTCCACGTCG ACCACGTCAG ACCCCGACTC CACTTCTTCG GACCCAGGAG

                                                      CDR1
                                                    ~~~~~~~~~~~
         ·  V  K  V   S  C  K  A   S  G  G   T  F  S   S  N  Y  I  ·
      51 GGTGAAGGTC TCCTGCAAGG CTTCTGGAGG CACCTTCAGC AGCAACTACA
         CCACTTCCAG AGGACGTTCC GAAGACCTCC GTGGAAGTCG TCGTTGATGT

         ~~~~~                                              ~~~
         ·  S  W  V   R  Q  A   P  G  Q  G   L  E  W   M  G  I
     101 TCAGCTGGGT GCGACAGGCC CCTGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGGGATC
         AGTCGACCCA CGCTGTCCGG GGACCTGTTC CCGAACTCAC CTACCCCTAG

                          CDR2
         ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          S  P  G  T   G  I  N   A  Y  Y   A  Q  K  F   Q  G  R  ·
     151 AGCCCTGGCA CCGGTATCAA CGCATACTAC GCACAGAAGT TCCAGGGCAG
         TCGGGACCGT GGCCATAGTT GCGTATGATG CGTGTCTTCA AGGTCCCGTC

         ·  V  T  I   T  A  D  E   S  T  S   T  A  Y   M  E  L  S  ·
     201 AGTCACGATT ACCGCGGACG AATCCACGAG CACAGCCTAC ATGGAGCTGA
         TCAGTGCTAA TGGCGCCTGC TTAGGTGCTC GTGTCGGATG TACCTCGACT

                                                      CDR3
                                                    ~~~~~~~
         ·  S  L  R   S  E  D   T  A  V  Y   Y  C  A   R  S  K
     251 GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GAGAAGCAAG
         CGTCGGACTC TAGACTCCTG TGCCGGCACA TAATGACACG CTCTTCGTTC

                          CDR3
         ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          K  G  M  Y   G  G  W   T  Y  P   L  M  M  F   D  L  W  ·
     301 AAGGGCATGT ACGGCGGCTG GACCTACCCC CTGATGATGT TCGACCTGTG
         TTCCCGTACA TGCCGCCGAC CTGGATGGGG GACTACTACA AGCTGGACAC

         ·  G  Q  G   T  L  V  T   V  S  S
     351 GGGCCAGGGC ACCCTGGTGA CCGTGAGCAG C
         CCCGGTCCCG TGGGACCACT GGCACTCGTC G
```

IL-23 p19 $5040^{Q/EV}$

VH-HCO (SEQ ID NO:134): (Seqüência de aminoácido VH é 5040 Vh)

```
          Q  V  Q  L   V  Q  S   G  A  E   V  K  K  P   G  S  S ·
        1 CAGGTGCAGC TGGTGCAGAG CGGCGCCGAG GTGAAGAAGC CCGGCAGCAG
          GTCCACGTCG ACCACGTCTC GCCGCGGCTC CACTTCTTCG GGCCGTCGTC

                                                        CDR1
                                                      ~~~~~~~~~~~
          ·  V  K  V   S  C  K  A   S  G  G   T  F  S   S  N  Y  I ·
       51 CGTGAAGGTG AGCTGCAAGG CCAGCGGCGG CACCTTCAGC AGCAACTACA
          GCACTTCCAC TCGACGTTCC GGTCGCCGCC GTGGAAGTCG TCGTTGATGT

          ~~~~~                                              ~~~
          ·  S  W  V   R  Q  A   P  G  Q  G   L  E  W   M  G  I
      101 TCAGCTGGGT GCGCCAGGCC CCCGGCCAGG GCCTGGAGTG GATGGGCATC
          AGTCGACCCA CGCGGTCCGG GGGCCGGTCC CGGACCTCAC CTACCCGTAG

                     CDR2
          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
           S  P  G  T   G  I  N   A  Y  Y   A  Q  K  F   Q  G  R ·
      151 AGCCCCGGCA CCGGCATCAA CGCCTACTAC GCCCAGAAGT TCCAGGGCCG
          TCGGGGCCGT GGCCGTAGTT GCGGATGATG CGGGTCTTCA AGGTCCCGGC

          ·  V  T  I   T  A  D  E   S  T  S   T  A  Y   M  E  L  S ·
      201 CGTGACCATC ACCGCCGACG AGAGCACCAG CACCGCCTAC ATGGAGCTGA
          GCACTGGTAG TGGCGGCTGC TCTCGTGGTC GTGGCGGATG TACCTCGACT

                                                          ~~~~~~
          ·  S  L  R   S  E  D   T  A  V  Y   Y  C  A   R  S  K
      251 GCAGCCTGCG CAGCGAGGAC ACCGCCGTGT ACTACTGCGC CCGCAGCAAG
          CGTCGGACGC GTCGCTCCTG TGGCGGCACA TGATGACGCG GGCGTCGTTC

                               CDR3
          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
           K  G  M  Y   G  G  W   T  Y  P   L  M  M  F   D  L  W ·
      301 AAGGGCATGT ACGGCGGCTG GACCTACCCC CTGATGATGT TCGACCTGTG
          TTCCCGTACA TGCCGCCGAC CTGGATGGGG GACTACTACA AGCTGGACAC

          ·  G  Q  G   T  L  V  T   V  S  S
      351 GGGCCAGGGC ACCCTGGTGA CCGTGAGCAG C
          CCCGGTCCCG TGGGACCACT GGCACTCGTC G
```

IL-23 p19 5040$^{Q/EV}$
VH-MOR (SEQ ID NO:135): (Seqüência de aminoácido VH é 5040 Vh)

```
     Q  V  Q  L  V  Q  S  G  A  E  V  K  K  P  G  S  S ·
   1 CAGGTGCAAT TGGTTCAGTC TGGCGCGGAA GTGAAAAAAC CGGGCAGCAG
     GTCCACGTTA ACCAAGTCAG ACCGCGCCTT CACTTTTTTG GCCCGTCGTC

                                                    CDR1
                                                   ~~~~~~~~~~~
     ·  V  K  V  S  C  K  A  S  G  G  T  F  S  S  N  Y  I ·
  51 CGTGAAAGTG AGCTGCAAAG CCTCCGGAGG CACTTTTTCT TCTAATTATA
     GCACTTTCAC TCGACGTTTC GGAGGCCTCC GTGAAAAAGA AGATTAATAT

     ~~~~~                                             ~~~
     ·  S  W  V  R  Q  A  P  G  Q  G  L  E  W  M  G  I
 101 TTTCTTGGGT GCGCCAAGCC CCTGGGCAGG GTCTCGAGTG GATGGGCATT
     AAAGAACCCA CGCGGTTCGG GGACCCGTCC CAGAGCTCAC CTACCCGTAA

               CDR2
     ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
      S  P  G  T  G  I  N  A  Y  Y  A  Q  K  F  Q  G  R ·
 151 TCTCCTGGTA CTGGTATTAA TGCTTATTAT GCTCAGAAGT TTCAGGGTCG
     AGAGGACCAT GACCATAATT ACGAATAATA CGAGTCTTCA AAGTCCCAGC

     ·  V  T  I  T  A  D  E  S  T  S  T  A  Y  M  E  L  S ·
 201 GGTGACCATT ACCGCGGATG AAAGCACCAG CACCGCGTAT ATGGAACTGA
     CCACTGGTAA TGGCGCCTAC TTTCGTGGTC GTGGCGCATA TACCTTGACT

                                                    ~~~~~~
     ·  S  L  R  S  E  D  T  A  V  Y  Y  C  A  R  S  K
 251 GCAGCCTGCG TAGCGAAGAT ACGGCCGTGT ATTATTGCGC GCGTTCTAAG
     CGTCGGACGC ATCGCTTCTA TGCCGGCACA TAATAACGCG CGCAAGATTC

                          CDR3
     ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
      K  G  M  Y  G  G  W  T  Y  P  L  M  M  F  D  L  W ·
 301 AAGGGTATGT ATGGTGGTTG GACTTATCCT CTTATGATGT TTGATCTTTG
     TTCCCATACA TACCACCAAC CTGAATAGGA GAATACTACA AACTAGAAAC

     ·  G  Q  G  T  L  V  T  V  S  S
 351 GGGCCAAGGC ACCCTGGTGA CGGTTAGCTC A
     CCCGGTTCCG TGGGACCACT GCCAATCGAG T
```

IL-23 p19 $5040^{O/EV}$
VK-HCO (SEQ ID NO:136): (Seqüência de aminoácido VK é $4190^{EV}$)

```
        E  I  V  L  T  Q  S  P  A  T  L  S  L  S  P  G  E ·
      1 GAGATCGTGC TGACCCAGAG CCCCGCCACC CTGAGCCTGA GCCCCGGCGA
        CTCTAGCACG ACTGGGTCTC GGGGCGGTGG GACTCGGACT CGGGGCCGCT

                                    CDR1
                                ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
        · R  A  T  L  S  C  R  A  S  Q  S  V  S  S  N  Y  L ·
     51 GCGCGCCACC CTGAGCTGCC GCGCCAGCCA GAGCGTGAGC AGCAACTACC
        CGCGCGGTGG GACTCGACGG CGCGGTCGGT CTCGCACTCG TCGTTGATGG

        ~~~~~
        · A  W  Y  Q  Q  K  P  G  Q  A  P  R  L  L  I  Y
    101 TGGCCTGGTA CCAGCAGAAG CCCGGCCAGG CCCCCCGCCT GCTGATCTAC
        ACCGGACCAT GGTCGTCTTC GGGCCGGTCC GGGGGGCGGA CGACTAGATG

              CDR2
        ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
        Y  A  S  R  R  A  T  G  V  P  A  R  F  S  G  S  G ·
    151 TACGCCAGCC GCCGCGCCAC CGGCGTGCCC GCCCGCTTCA GCGGCAGCGG
        ATGCGGTCGG CGGCGCGGTG GCCGCACGGG CGGGCGAAGT CGCCGTCGCC

        · S  G  T  D  F  T  L  T  I  S  S  L  E  P  E  D  F ·
    201 CAGCGGCACC GACTTCACCC TGACCATCAG CAGCCTGGAG CCCGAGGACT
        GTCGCCGTGG CTGAAGTGGG ACTGGTAGTC GTCGGACCTC GGGCTCCTGA

                                    CDR3
                                ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
        · A  V  Y  Y  C  Q  Q  T  S  N  T  P  F  T  F  G
    251 TCGCCGTGTA CTACTGCCAG CAGACCAGCA ACACCCCCTT CACCTTCGGC
        AGCGGCACAT GATGACGGTC GTCTGGTCGT TGTGGGGGAA GTGGAAGCCG

        Q  G  T  K  V  E  I  K
    301 CAGGGCACCA AGGTGGAGAT CAAG
        GTCCCGTGGT TCCACCTCTA GTTC
```

IL-23 p19 5040$^{Q/EV}$
VK-HCO (SEQ ID NO:137): (Seqüência de aminoácido VK é 4190$^{EV}$)

```
          E  I  V  L  T  Q  S  P  A  T  L  S  L  S  P  G  E ·
        1 GAAATTGTGT TGACACAGTC TCCAGCCACC CTGTCTTTGT CTCCAGGGGA
          CTTTAACACA ACTGTGTCAG AGGTCGGTGG GACAGAAACA GAGGTCCCCT

                                        CDR1
                                ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          · R  A  T  L  S  C  R  A  S  Q  S  V  S  S  N  Y  L ·
       51 AAGAGCCACC CTCTCCTGCA GGGCCAGTCA GAGTGTTAGC AGCAACTACT
          TTCTCGGTGG GAGAGGACGT CCCGGTCAGT CTCACAATCG TCGTTGATGA

          ~~~~~~
          · A  W  Y  Q  Q  K  P  G  Q  A  P  R  L  L  I  Y
      101 TAGCCTGGTA CCAACAGAAA CCTGGCCAGG CTCCCAGGCT CCTCATCTAT
          ATCGGACCAT GGTTGTCTTT GGACCGGTCC GAGGGTCCGA GGAGTAGATA

                  CDR2
          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          Y  A  S  R  R  A  T  G  V  P  A  R  F  S  G  S  G ·
      151 TACGCATCCC GCAGGGCCAC TGGCGTGCCA GCCAGGTTCA GTGGCAGTGG
          ATGCGTAGGG CGTCCCGGTG ACCGCACGGT CGGTCCAAGT CACCGTCACC

          · S  G  T  D  F  T  L  T  I  S  S  L  E  P  E  D  F ·
      201 GTCTGGGACA GACTTCACTC TCACCATCAG CAGCCTAGAG CCTGAAGATT
          CAGACCCTGT CTGAAGTGAG AGTGGTAGTC GTCGGATCTC GGACTTCTAA

                                  CDR3
                          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          · A  V  Y  Y  C  Q  Q  T  S  N  T  P  F  T  F  G
      251 TTGCAGTTTA TTACTGTCAG CAGACTTCTA ATACTCCTTT TACCTTTGGC
          AACGTCAAAT AATGACAGTC GTCTGAAGAT TATGAGGAAA ATGGAAACCG

          Q  G  T  K  V  E  I  K
      301 CAGGGTACGA AAGTTGAAAT TAAA
          GTCCCATGCT TTCAACTTTA ATTT
```

IL-23 p19 $5040^{Q/EV}$
VK-HCO (SEQ ID NO:138): (Seqüência de aminoácido VK é $4190^{EV}$)

```
        E  I  V  L  T  Q  S  P  A  T  L  S  L  S  P  G  E ·
    1 GAGATCGTGC TGACCCAGAG CCCGGCGACC CTGAGCCTGT CTCCGGGCGA
      CTCTAGCACG ACTGGGTCTC GGGCCGCTGG GACTCGGACA GAGGCCCGCT

                                    CDR1
                            ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
     ·  R  A  T  L  S  C  R  A  S  Q  S  V  S  S  N  Y  L ·
   51 ACGTGCGACC CTGAGCTGCA GAGCGAGCCA GTCTGTTTCT TCTAATTATC
      TGCACGCTGG GACTCGACGT CTCGCTCGGT CAGACAAAGA AGATTAATAG

      ~~~~~
     ·  A  W  Y  Q  Q  K  P  G  Q  A  P  R  L  L  I  Y
  101 TGGCTTGGTA CCAGCAGAAA CCAGGTCAAG CACCGCGTCT ATTAATTTAT
      ACCGAACCAT GGTCGTCTTT GGTCCAGTTC GTGGCGCAGA TAATTAAATA

            CDR2
      ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
        Y  A  S  R  R  A  T  G  V  P  A  R  F  S  G  S  G ·
  151 TATGCTTCTC GTCGTGCAAC TGGGGTCCCG GCGCGTTTTA GCGGCTCTGG
      ATACGAAGAG CAGCACGTTG ACCCCAGGGC CGCGCAAAAT CGCCGAGACC

     ·  S  G  T  D  F  T  L  T  I  S  S  L  E  P  E  D  F ·
  201 ATCCGGCACG GATTTTACCC TGACCATTAG CAGCCTGGAA CCTGAAGACT
      TAGGCCGTGC CTAAAATGGG ACTGGTAATC GTCGGACCTT GGACTTCTGA

                                    CDR3
                            ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
     ·  A  V  Y  Y  C  Q  Q  T  S  N  T  P  F  T  F  G
  251 TTGCGGTGTA TTATTGCCAG CAGACTTCTA ATACTCCTTT TACCTTTGGC
      AACGCCACAT AATAACGGTC GTCTGAAGAT TATGAGGAAA ATGGAAACCG

        Q  G  T  K  V  E  I  K
  301 CAGGGTACGA AAGTTGAAAT TAAA
      GTCCCATGCT TTCAACTTTA ATTT
```

IL-23 p19 3759[EQ/08]
VH-GCE (SEQ ID NO:139): (Seqüência de aminoácido VH é 4649r[E])

```
          E V Q L  V Q S  G A E  V K K P  G E S ·
     1    GAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGAGCAGAG GTGAAAAAGC CCGGGGAGTC
          CTCCACGTCG ACCACGTCAG ACCTCGTCTC CACTTTTTCG GGCCCCTCAG

                                                        CDR1
                                                    ~~~~~~~~~~~
          · L K I  S C K G  S G Y  S F S  N Y W I ·
    51    TCTGAAGATC TCCTGTAAGG GTTCTGGATA CAGCTTTAGC AACTACTGGA
          AGACTTCTAG AGGACATTCC CAAGACCTAT GTCGAAATCG TTGATGACCT

          ~~~~~                                       ~~~
          · G W V  R Q M  P G K G  L E W  M G I
   101    TCGGCTGGGT GCGCCAGATG CCCGGGAAAG GCCTGGAGTG GATGGGGATC
          AGCCGACCCA CGCGGTCTAC GGGCCCTTTC CGGACCTCAC CTACCCCTAG

                          CDR2
          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          I D P S  N S Y  T R Y  S P S F  Q G Q ·
   151    ATCGACCCTA GCAACTCTTA CACCAGATAC AGCCCGTCCT TCCAAGGCCA
          TAGCTGGGAT CGTTGAGAAT GTGGTCTATG TCGGGCAGGA AGGTTCCGGT

          · V T I  S A D K  S I S  T A Y  L Q W S ·
   201    GGTCACCATC TCAGCCGACA AGTCCATCAG CACCGCCTAC CTGCAGTGGA
          CCAGTGGTAG AGTCGGCTGT TCAGGTAGTC GTGGCGGATG GACGTCACCT

                                                    ~~~~~~~
          · S L K  A S D  T A M  Y  Y C A  R W Y
   251    GCAGCCTGAA GGCCTCGGAC ACCGCCATGT ATTACTGTGC GAGATGGTAC
          CGTCGGACTT CCGGAGCCTG TGGCGGTACA TAATGACACG CTCTACCATG

                CDR3
          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          Y K P F  D V W  G Q G  T L V T  V S S ·
   301    TACAAGCCCT TCGACGTGTG GGGCCAGGGC ACCCTGGTGA CCGTGAGCAG
          ATGTTCGGGA AGCTGCACAC CCCGGTCCCG TGGGACCACT GGCACTCGTC

          · S
   351    C
          G
```

IL-23 p19 3759[EQ/QS]
VH-HCO (SEQ ID NO:140): (Seqüência de aminoácido VH é 4649r[E])

```
          E  V  Q  L   V  Q  S   G  A  E   V  K  K  P   G  E  S ·
     1  GAGGTGCAGC TGGTGCAGAG CGGCGCCGAG GTGAAGAAGC CCGGCGAGAG
        CTCCACGTCG ACCACGTCTC GCCGCGGCTC CACTTCTTCG GGCCGCTCTC

                                                          CDR1
                                                      ~~~~~~~~~~~
        ·  L  K  I   S  C  K  G   S  G  Y   S  F  S   N  Y  W  I ·
    51  CCTGAAGATC AGCTGCAAGG GCAGCGGCTA CAGCTTCAGC AACTACTGGA
        GGACTTCTAG TCGACGTTCC CGTCGCCGAT GTCGAAGTCG TTGATGACCT

        ~~~~~                                                 ~~~
        ·  G  W  V   R  Q  M   P  G  K  G   L  E  W   M  G  I
   101  TCGGCTGGGT GCGCCAGATG CCCGGCAAGG GCCTGGAGTG GATGGGCATC
        AGCCGACCCA CGCGGTCTAC GGGCCGTTCC CGGACCTCAC CTACCCGTAG

                            CDR2
        ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
         I  D  P  S   N  S  Y   T  R  Y   S  P  S  F   Q  G  Q ·
   151  ATCGACCCCA GCAACAGCTA CACCCGCTAC AGCCCCAGCT TCCAGGGCCA
        TAGCTGGGGT CGTTGTCGAT GTGGGCGATG TCGGGGTCGA AGGTCCCGGT

        ·  V  T  I   S  A  D  K   S  I  S   T  A  Y   L  Q  W  S ·
   201  GGTGACCATC AGCGCCGACA AGAGCATCAG CACCGCCTAC CTGCAGTGGA
        CCACTGGTAG TCGCGGCTGT TCTCGTAGTC GTGGCGGATG GACGTCACCT

                                                          ~~~~~~~
        ·  S  L  K   A  S  D   T  A  M  Y   Y  C  A   R  W  Y
   251  GCAGCCTGAA GGCCAGCGAC ACCGCCATGT ACTACTGCGC CCGCTGGTAC
        CGTCGGACTT CCGGTCGCTG TGGCGGTACA TGATGACGCG GGCGACCATG

             CDR3
        ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
         Y  K  P  F   D  V  W   G  Q  G   T  L  V  T   V  S  S ·
   301  TACAAGCCCT TCGACGTGTG GGGCCAGGGC ACCCTGGTGA CCGTGAGCAG
        ATGTTCGGGA AGCTGCACAC CCCGGTCCCG TGGGACCACT GGCACTCGTC

        · S
   351  C
        G
```

IL-23 p19 3759$^{EQ/QS}$
VH-MOR (SEQ ID NO:141): (Seqüência de aminoácido VH é 4649r$^{E}$)

```
          E  V  Q  L    V  Q  S    G  A  E    V  K  K  P    G  E  S ·
      1   GAGGTGCAAT TGGTTCAGAG CGGCGCGGAA GTGAAAAAAC CGGGCGAAAG
          CTCCACGTTA ACCAAGTCTC GCCGCGCCTT CACTTTTTTG GCCCGCTTTC

                                                          CDR1
                                                          ~~~~~~~~~~~
          · L  K  I    S  C  K  G    S  G  Y    S  F  S    N  Y  W  I ·
     51   CCTGAAAATT AGCTGCAAAG GTTCCGGATA TTCCTTTTCT AATTATTGGA
          GGACTTTTAA TCGACGTTTC CAAGGCCTAT AAGGAAAAGA TTAATAACCT

          ~~~~~                                               ~~~
          ·  G  W  V    R  Q  M    P  G  K  G    L  E  W    M  G  I
    101   TTGGTTGGGT GCGCCAGATG CCTGGGAAGG GTCTCGAGTG GATGGGCATT
          AACCAACCCA CGCGGTCTAC GGACCCTTCC CAGAGCTCAC CTACCCGTAA
                CDR2
          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          I  D  P  S    N  S  Y    T  R  Y    S  P  S  F    Q  G  Q ·
    151   ATCGATCCGT CTAATAGCTA TACCCGCTAT TCTCCGAGCT TTCAGGGCCA
          TAGCTAGGCA GATTATCGAT ATGGGCGATA AGAGGCTCGA AAGTCCCGGT

          ·  V  T  I    S  A  D  K    S  I  S    T  A  Y    L  Q  W  S ·
    201   GGTGACCATT AGCGCGGATA AAAGCATTAG CACCGCGTAT CTTCAATGGA
          CCACTGGTAA TCGCGCCTAT TTTCGTAATC GTGGCGCATA GAAGTTACCT

                                                              ~~~~~~~
          ·  S  L  K    A  S  D    T  A  M  Y    Y  C  A    R  W  Y
    251   GCAGCCTGAA AGCGAGCGAT ACGGCCATGT ATTATTGCGC GCGTTGGTAT
          CGTCGGACTT TCGCTCGCTA TGCCGGTACA TAATAACGCG CGCAACCATA

                CDR3
          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          Y  K  P  F    D  V  W    G  Q  G    T  L  V  T    V  S  S ·
    301   TATAAGCCTT TTGATGTTTG GGGCCAAGGC ACCCTGGTGA CGGTTAGCTC
          ATATTCGGAA AACTACAAAC CCCGGTTCCG TGGGACCACT GCCAATCGAG

          · S
    351   A
          T
```

IL-23 p19 3759[EQ/QS]
VL-GCE (SEQ ID NO:142): (Seqüência de aminoácido VL é 5059[QS])

```
          Q  S  V  L   T  Q  P   P  S  V   S  G  A  P   G  Q  R ·
    1  CAGTCTGTGC TGACGCAGCC GCCCTCAGTG TCTGGGGCCC CAGGGCAGAG
       GTCAGACACG ACTGCGTCGG CGGGAGTCAC AGACCCCGGG GTCCCGTCTC

                                                CDR1
                              ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
       · V  T  I   S  C  T  G   S  S  S   N  I  G   S  G  Y  D ·
   51  GGTCACCATC TCCTGCACTG GGAGCAGCTC CAACATCGGG AGCGGTTATG
       CCAGTGGTAG AGGACGTGAC CCTCGTCGAG GTTGTAGCCC TCGCCAATAC

       ~~~~~~~~
       · V  H  W   Y  Q  Q   L  P  G  T   A  P  K   L  L  I
  101  ATGTACACTG GTACCAGCAG CTTCCAGGAA CAGCCCCCAA ACTCCTCATC
       TACATGTGAC CATGGTCGTC GAAGGTCCTT GTCGGGGGTT TGAGGAGTAG

                    CDR2
          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
        Y  G  N  S   K  R  P   S  G  V   P  D  R  F   S  G  S ·
  151  TATGGTAACA GCAAGCGGCC CTCAGGGGTC CCTGACCGAT TCTCTGGCTC
       ATACCATTGT CGTTCGCCGG GAGTCCCCAG GGACTGGCTA AGAGACCGAG

       · K  S  G   T  S  A  S   L  A  I   T  G  L   Q  S  E  D ·
  201  CAAGTCTGGC ACCTCAGCCT CCCTGGCCAT CACTGGGCTC CAGAGCGAGG
       GTTCAGACCG TGGAGTCGGA GGGACCGGTA GTGACCCGAG GTCTCGCTCC

                                                CDR3
                                  ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
       · E  A  D   Y  Y  C   A  S  W  T   D  G  L   S  L  V
  251  ATGAGGCTGA TTATTACTGC GCCAGCTGGA CCGACGGCCT GAGCCTGGTG
       TACTCCGACT AATAATGACG CGGTCGACCT GGCTGCCGGA CTCGGACCAC

       ~~~
        V  F  G  G   G  T  K   L  T  V   L  G
  301  GTGTTCGGCG GCGGCACCAA GCTGACCGTG CTGGGC
       CACAAGCCGC CGCCGTGGTT CGACTGGCAC GACCCG
```

IL-23 p19 3759[EO/OS]
VL-HCO (SEQ ID NO:143): (Seqüência de aminoácido VL é 5059[QS])

```
          Q  S  V  L   T  Q  P   P  S  V   S  G  A  P   G  Q  R ·
    1  CAGAGCGTGC TGACCCAGCC CCCCAGCGTG AGCGGCGCCC CCGGCCAGCG
       GTCTCGCACG ACTGGGTCGG GGGGTCGCAC TCGCCGCGGG GGCCGGTCGC

                                                CDR1
                              ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          · V  T  I   S  C  T  G   S  S  S   N  I  G   S  G  Y  D ·
   51  CGTGACCATC AGCTGCACCG GCAGCAGCAG CAACATCGGC AGCGGCTACG
       GCACTGGTAG TCGACGTGGC CGTCGTCGTC GTTGTAGCCG TCGCCGATGC

          ~~~~~~~~
          · V  H  W   Y  Q  Q   L  P  G  T   A  P  K   L  L  I
  101  ACGTGCACTG GTACCAGCAG CTGCCCGGCA CCGCCCCCAA GCTGCTGATC
       TGCACGTGAC CATGGTCGTC GACGGGCCGT GGCGGGGGTT CGACGACTAG

                    CDR2
          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          Y  G  N  S   K  R  P   S  G  V   P  D  R  F   S  G  S ·
  151  TACGGCAACA GCAAGCGCCC CAGCGGCGTG CCCGACCGCT TCAGCGGCAG
       ATGCCGTTGT CGTTCGCGGG GTCGCCGCAC GGGCTGGCGA AGTCGCCGTC
          · K  S  G   T  S  A  S   L  A  I   T  G  L   Q  S  E  D ·
  201  CAAGAGCGGC ACCAGCGCCA GCCTGGCCAT CACCGGCCTC CAGAGCGAGG
       GTTCTCGCCG TGGTCGCGGT CGGACCGGTA GTGGCCGGAG GTCTCGCTCC

                                                CDR3
                                  ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
          · E  A  D   Y  Y  C   A  S  W  T   D  G  L   S  L  V
  251  ACGAGGCCGA CTACTACTGT GCCAGCTGGA CCGACGGCCT GAGCCTGGTG
       TGCTCCGGCT GATGATGACA CGGTCGACCT GGCTGCCGGA CTCGGACCAC

          ~~~
          V  F  G  G   G  T  K   L  T  V   L  G
  301  GTGTTCGGCG GCGGCACCAA GCTGACCGTG CTGGGC
       CACAAGCCGC CGCCGTGGTT CGACTGGCAC GACCCG
```

IL-23 p19 3759[EQ/QS]
VL-MOR (SEQ ID NO:144): (Seqüência de aminoácido VL é 5059[QS])

```
     Q  S  V  L   T  Q  P   P  S  V   S  G  A  P   G  Q  R ·
1    CAGAGCGTGC TGACCCAGCC GCCTTCAGTG AGTGGCGCAC CAGGTCAGCG
     GTCTCGCACG ACTGGGTCGG CGGAAGTCAC TCACCGCGTG GTCCAGTCGC

                                        CDR1
                          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
     · V  T  I   S  C  T  G   S  S  S   N  I  G   S  G  Y  D ·
51   TGTGACCATC TCGTGTACGG GCAGCAGCAG CAACATTGGT TCTGGTTATG
     ACACTGGTAG AGCACATGCC CGTCGTCGTC GTTGTAACCA AGACCAATAC

     ~~~~~~~~
     · V  H  W   Y  Q  Q   L  P  G  T   A  P  K   L  L  I
101  ATGTGCATTG GTACCAGCAG TTGCCCGGGA CGGCGCCGAA ACTTCTGATT
     TACACGTAAC CATGGTCGTC AACGGGCCCT GCCGCGGCTT TGAAGACTAA

                CDR2
     ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
     Y  G  N  S   K  R  P   S  G  V   P  D  R  F   S  G  S ·
151  TATGGTAATT CTAAGCGTCC CTCAGGCGTG CCGGATCGTT TTAGCGGATC
     ATACCATTAA GATTCGCAGG GAGTCCGCAC GGCCTAGCAA AATCGCCTAG
     · K  S  G   T  S  A   S  L  A  I   T  G  L   Q  S  E  D ·
201  CAAAAGCGGC ACCAGCGCGA GCCTTGCGAT TACGGGCCTG CAAAGCGAAG
     GTTTTCGCCG TGGTCGCGCT CGGAACGCTA ATGCCCGGAC GTTTCGCTTC

                                        CDR3
                          ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
     · E  A  D   Y  Y  C   A  S  W  T   D  G  L   S  L  V
251  ACGAAGCGGA TTATTATTGC GCTTCTTGGA CTGATGGTCT TTCTCTTGTT
     TGCTTCGCCT AATAATAACG CGAAGAACCT GACTACCAGA AAGAGAACAA

     ~~~~
     V  F  G  G   G  T  K   L  T  V   L  G
301  GTGTTTGGCG GCGGCACGAA GTTAACCGTT CTTGGC

        CACAAACCGC CGCCGTGCTT CAATTGGCAA GAACCG
```

## Tabela 10

## SEQ ID NO:145 (subunidade de IL-23p19 humana)

```
Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
1               5                  10                  15
Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
            20                  25                  30
Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
        35                  40                  45
Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
    50                  55                  60
Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
65                  70                  75                  80
Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
                85                  90                  95
Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu
            100                 105                 110
Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Ala Gln Leu His Ala Ser Leu
        115                 120                 125
Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr
```

```
    130                 135                 140
Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu
145                 150                 155                 160
Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala
                165                 170                 175
Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
            180                 185
```

## REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo IL-23p19 isolado, caracterizado pelo fato de que compreende:

(i) pelo menos uma região variável de cadeia leve, a dita região variável de cadeia leve compreendendo:

uma sequência de aminoácido de cadeia leve da região determinante da complementaridade 1 (CDRL1) de SEQ ID NO: 50;

uma sequência de aminoácido CDRL2 de SEQ ID NO: 56; e

uma sequência de aminoácido CDRL3 de SEQ ID NO: 73;

e

(ii) pelo menos uma região variável de cadeia pesada, a dita região variável de cadeia pesada compreendendo:

uma sequência de aminoácido de cadeia pesada da região determinante da complementaridade 1 (CDRH1) de SEQ ID NOS: 5;

uma sequência de aminoácido de CDRH2 de SEQ ID NO: 20; e

uma sequência de aminoácido de CDRH3 de SEQ ID NO: 44.

2. Anticorpo IL-23p19 isolado de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende ainda pelo menos uma região estrutural humana adjacente à pelo menos uma região determinante da complementaridade.

3. Anticorpo IL-23p19 isolado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo uma sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 116.

4. Anticorpo IL-23p19 isolado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo uma sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 106.

5. Anticorpo IL-23p19 isolado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 116 e uma região variável de cadeia pesada compreendendo uma sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 106.

6. Anticorpo IL-23p19 de acordo com qualquer uma das reivindi-

cações de 1 a 5, caracterizado pelo fato de que o dito anticorpo se liga ao IL-23p19 com pelo menos uma afinidade selecionada de pelo menos $10^{-9}$ M, pelo menos $10^{-10}$ M, pelo menos $10^{-11}$ M, e pelo menos $10^{-12}$ M, pelo menos $10^{-13}$ M, pelo menos $10^{-14}$ M, e pelo menos $10^{-15}$ M, como determinado pela ressonância de plásmon superficial ou pelo método Kinexa.

7. Anticorpo IL-23p19 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que o referido anticorpo modula uma atividade de pelo menos um polipeptídeo IL-23, a atividade selecionada da ligação IL-23p19 de IL-23R, indução da fosforilação de STAT3 e produção de IL-17.

8. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um anticorpo IL-23p19 isolado como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 5 e pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

9. Composição de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que compreende ainda pelo menos um composto ou polipeptídeo selecionado de um rótulo detectável ou repórter, um antagonista TNF, um fármaco antiinfectivo, um fármaco do sistema cardiovascular (CV), um fármaco do sistema nervoso central (CNS), um fármaco do sistema nervoso autonômico (ANS), um fármaco do trato respiratório, um fármaco do trato gastrointestinal (GI), um fármaco hormonal, um fármaco para o equilíbrio de fluido ou eletrólito, um fármaco hematológico, um antineoplástico, um fármaco da imunomodulação, um fármaco oftálmico, ótico ou nasal, um fármaco tópico, um fármaco nutricional, uma citocina, e um antagonista de citocina.

10. Anticorpo IL-23p19 isolado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende uma sequência de aminoácido da região variável de cadeia leve codificada pela sequência de nucleotídeo selecionada do grupo consistindo nas SEQ ID NOS: 142-144.

11. Anticorpo IL-23p19 isolado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende uma sequência de aminoácido da região variável de cadeia pesada codificada pela sequência de nucleotídeo selecionada do grupo consistindo nas SEQ ID NOS: 139-141.

12. Anticorpo IL-23p19 isolado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende a sequência da região variável de cadeia leve como definida na reivindicação 14 e uma sequência de aminoácido da região variável de cadeia pesada codificada pela sequência de nucleotídeo selecionada do grupo consistindo nas SEQ ID NOS: 139-141.

13. Anticorpo IL-23p19 de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que o dito anticorpo se liga a IL-23p19 com pelo menos uma afinidade selecionada de pelo menos $10^{-9}$ M, pelo menos $10^{-10}$ M, pelo menos $10^{-11}$ M, e pelo menos $10^{-12}$ M, pelo menos $10^{-13}$ M, pelo menos $10^{-14}$ M, e pelo menos $10^{-15}$ M, como determinado pela ressonância de plásmon superficial ou pelo método Kinexa.

14. Anticorpo IL-23p19 de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que o referido anticorpo modula uma atividade de pelo menos um polipeptídeo IL-23, a atividade selecionada do grupo consistindo na ligação do receptor de IL-23 (IL-23R), indução da fosforilação de STAT3 e produção de IL-17.

15. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade eficaz de pelo menos um anticorpo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 5 e 10 a 14 para uso no tratamento de uma condição relacionada com IL-23 em uma célula, tecido, órgão ou animal, que compreende o contato ou a administração da composição com, ou em, a dita célula, tecido, órgão ou animal, em que a condição relacionada com IL-23 é selecionada do grupo consistindo em psoríase, artrite psoriática, doença de Crohn, esclerose múltipla, neurite ótica, e síndrome clinicamente isolada.

16. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade eficaz de pelo menos um anticorpo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 5 e 10 a 14 para uso *in vivo* no diagnóstico de uma condição relacionada com IL-23 em uma célula, tecido, órgão ou animal, que compreende o contato ou a administração da composição com, ou em, a dita célula, tecido, órgão ou animal, em que a condição relacionada com IL-23 é selecionada do grupo consistindo em psoríase, artrite psoriática,

doença de Crohn, esclerose múltipla, neurite ótica, e síndrome clinicamente isolada.

17. Método *in vitro*, caracterizado pelo fato de que compreende usar uma quantidade eficaz de uma composição que compreende pelo menos um anticorpo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 5 e 10 a 14 para diagnosticar condições relacionadas com IL-23.

18. Composição para uso em terapia de acordo com a reivindicação 15, ou para uso em um método diagnóstico *in vitro* de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o método compreende ainda a administração, antes, concorrentemente ou após o dito contato ou administração, de pelo menos uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de pelo menos um composto ou polipeptídeo selecionado de um rótulo detectável ou repórter, um fármaco antiinfectivo, um fármaco do sistema cardiovascular (CV), um fármaco do sistema nervoso central (CNS), um fármaco do sistema nervoso autonômico (ANS), um fármaco do trato respiratório, um fármaco do trato gastrointestinal (GI), um fármaco hormonal, um fármaco para o equilíbrio de fluido ou eletrólito, um fármaco hematológico, um antineoplástico, um fármaco para imunomodulação, um fármaco oftálmico, ótico ou nasal, um fármaco tópico, um fármaco nutricional, uma citocina, e um antagonista da citocina.

19. Artigo de fabricação para uso farmacêutico ou diagnóstico humano, caracterizado pelo fato de que compreende material acondicionado e um recipiente compreendendo uma solução ou uma forma liofilizada de um anticorpo IL-23p19 como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7 e/ou 10-14.

20. Artigo de fabricação de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que o dito recipiente é um componente de um dispositivo ou sistema de liberação parenteral, subcutânea, intramuscular, intravenosa, intra-articular, intrabronquial, intra-abdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitário, intracelíaco, intracerebelar, intracerebroventricular, intracolônico, intracervical, intragástrico, intra-hepático, intramiocárdico, intra-ósseo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intra-

prostático, intrapulmonar, intra-retal, intra-renal, intra-retiniano, intra-espinhal, intra-sinovial, intratorácico, intra-uterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, retal, bucal, sublingual, intranasal e transdérmico.

21. Molécula de ácido nucleico isolada, caracterizada pelo fato de que codifica pelo menos um anticorpo IL-23pI9 isolado como definido em qualquer uma das reivindicações 1-7 e 10-14, e que compreende pelo menos um dentre:

uma sequência de nucleotídeos da região variável de cadeia leve selecionada do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 142-144; e

uma sequência de nucleotídeos da região variável da cadeia pesada selecionada do grupo consistindo nas SEQ ID NOs: 139-141.

22. Vetor de ácido nucleico isolado, caracterizado pelo fato de que compreende a molécula de ácido nucleico isolada como definida na reivindicação 21.

23. Célula hospedeira procariótica, caracterizada pelo fato de que compreende a molécula de ácido nucleico isolada como definida na reivindicação 22.

24. Método *in vitro* para a produção de um anticorpo IL-23p19 isolado como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 7 e 10-14, caracterizado pelo fato de que compreende fornecer o dito anticorpo a uma célula hospedeira ou animal transgênico não humano ou célula de planta capaz de expressar em quantidades recuperáveis o dito anticorpo.

25. Composição de acordo com a reivindicação 15 ou 16, caracterizada pelo fato de que a referida quantidade eficaz é 0,001-50 mg/kg das referidas células, tecido, órgão ou animal.

Fig. 1A

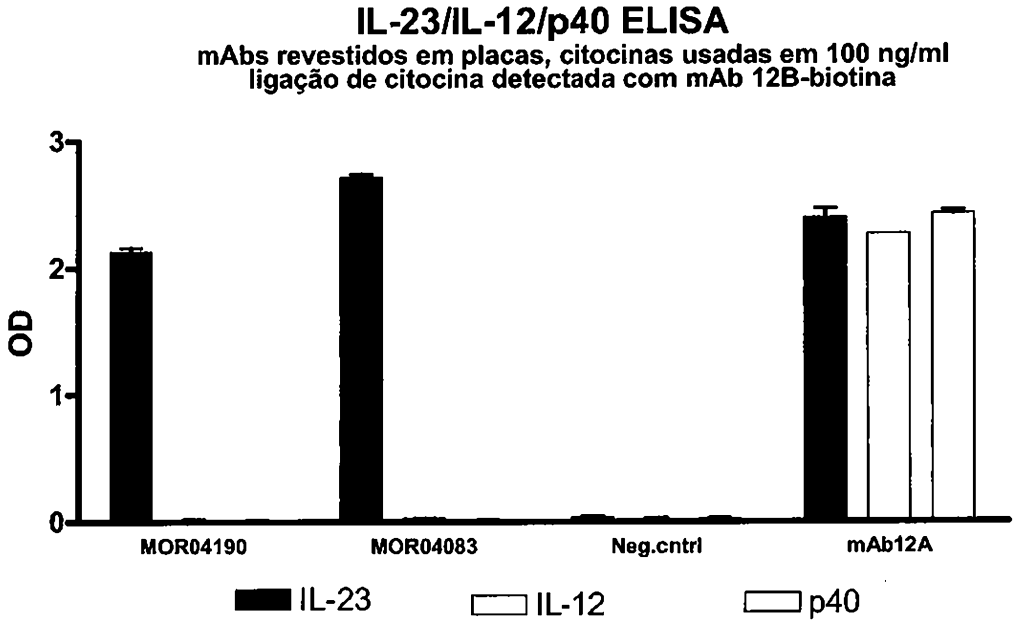

IL-23/IL-12/p40 ELISA
mAbs revestidos em placas, citocinas usadas em 100 ng/ml
ligação de citocina detectada com mAb 12B-biotina
OD
3
2
1
0
MOR04190
MOR04083
Neg.cntrl
mAb12A
IL-23
IL-12
p40

Fig. 1B

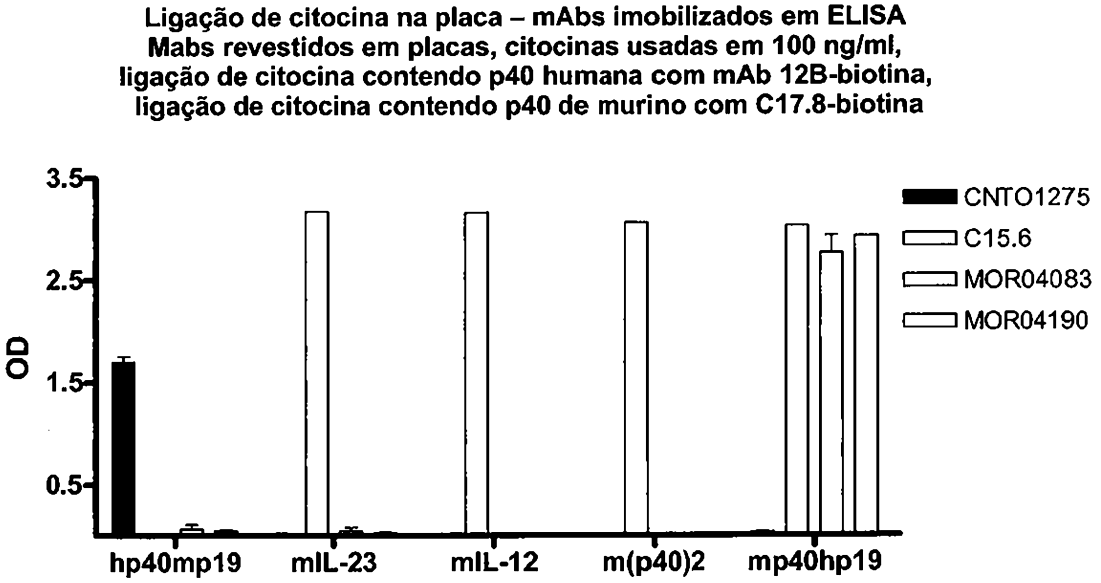

Ligação de citocina na placa – mAbs imobilizados em ELISA
Mabs revestidos em placas, citocinas usadas em 100 ng/ml,
ligação de citocina contendo p40 humana com mAb 12B-biotina,
ligação de citocina contendo p40 de murino com C17.8-biotina
OD
3.5
2.5
1.5
0.5
hp40mp19
mIL-23
mIL-12
m(p40)2
mp40hp19
CNTO1275
C15.6
MOR04083
MOR04190

Fig. 2

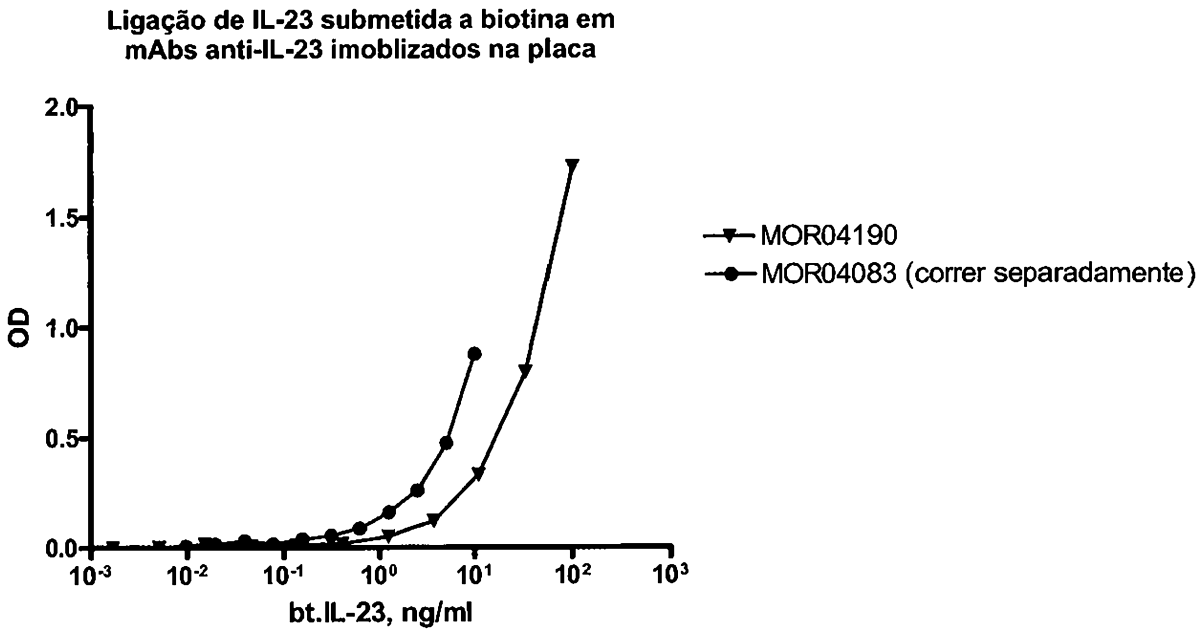

Ligação de IL-23 submetida a biotina em mAbs anti-IL-23 imoblizados na placa
OD
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
bt.IL-23, ng/ml
MOR04190
MOR04083 (correr separadamente)

Fig. 3A

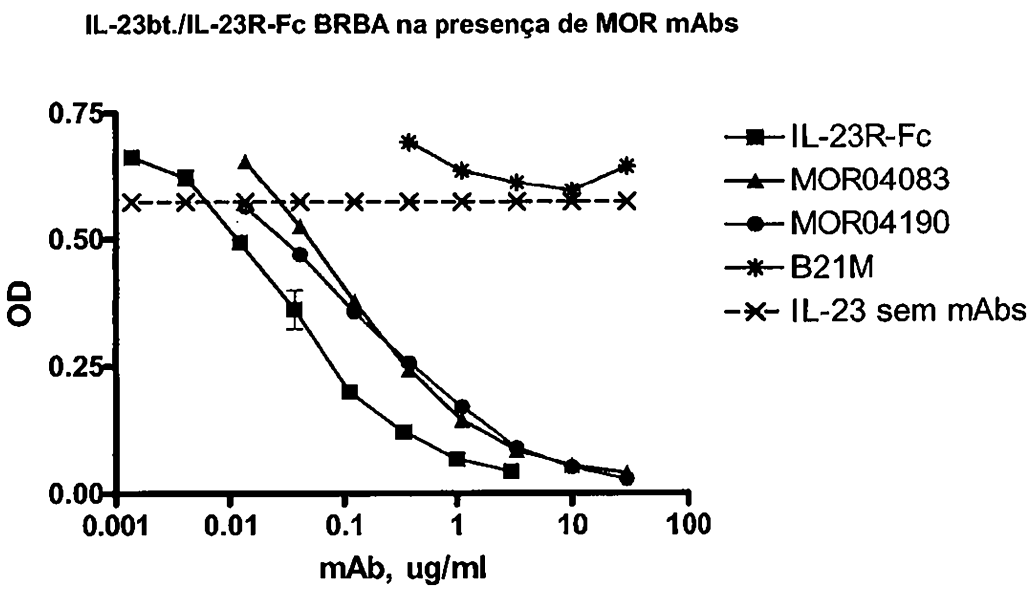

IL-23bt./IL-23R-Fc BRBA na presença de MOR mAbs
0.75
0.50
0.25
0.00
OD
0.001
0.01
0.1
1
10
100
mAb, ug/ml
IL-23R-Fc
MOR04083
MOR04190
B21M
IL-23 sem mAbs

Fig. 3B

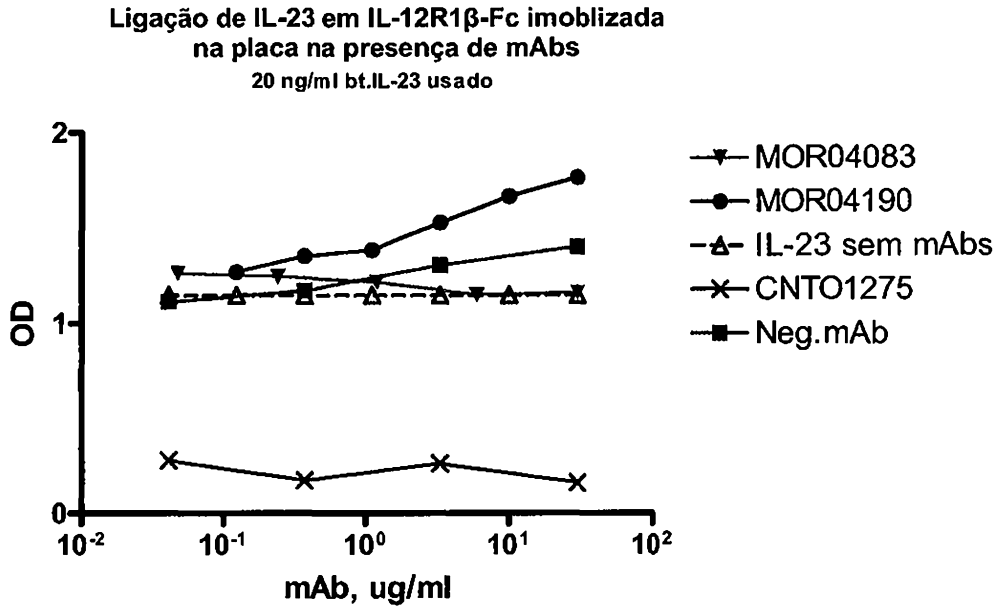

Ligação de IL-23 em IL-12R1β-Fc imoblizada
na placa na presença de mAbs
20 ng/ml bt.IL-23 usado
OD
2
1
0
10-2
10-1
100
101
102
mAb, ug/ml
MOR04083
MOR04190
IL-23 sem mAbs
CNTO1275
Neg.mAb

Fig. 3C

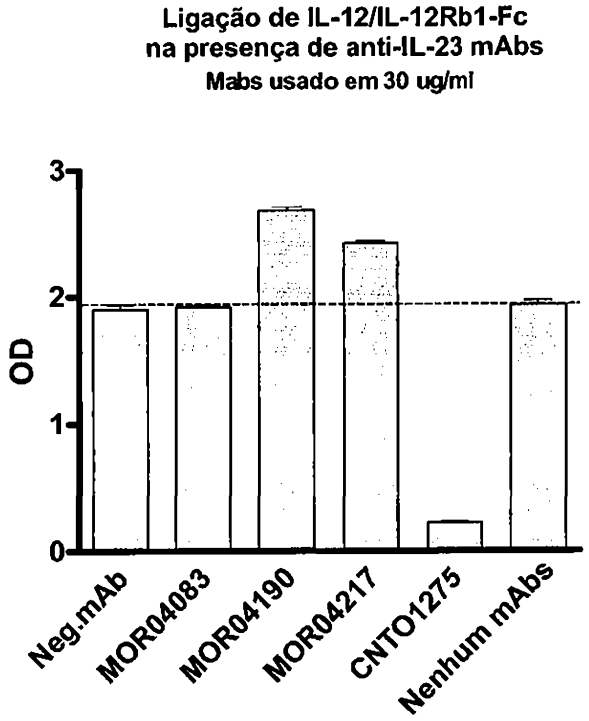

Ligação de IL-12/IL-12Rb1-Fc
na presença de anti-IL-23 mAbs
Mabs usado em 30 ug/ml
OD
3
2
1
0
Neg.mAb
MOR04083
MOR04190
MOR04217
CNTO1275
Nenhum mAbs

Fig. 4

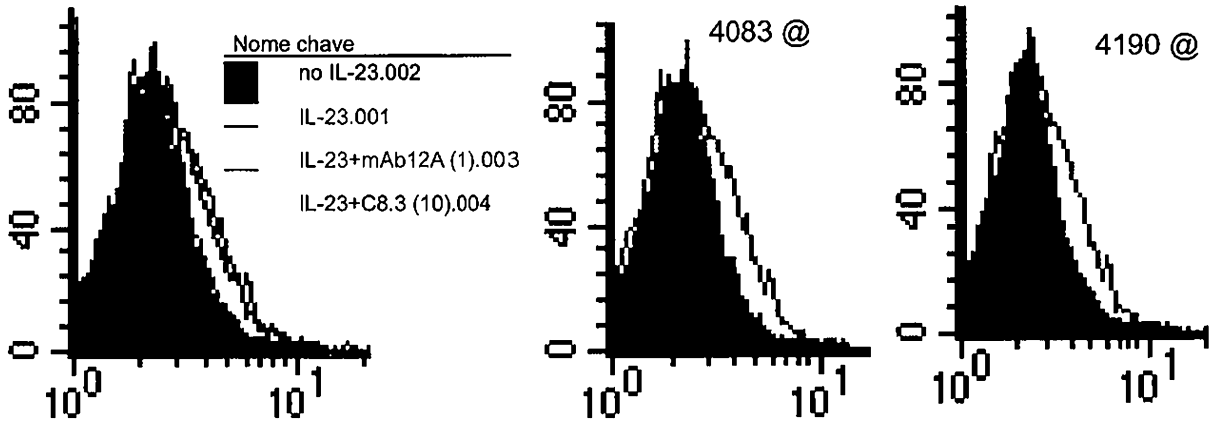

Nome chave
no IL-23.002
IL-23.001
IL-23+mAb12A (1).003
IL-23+C8.3 (10).004
4083 @
4190 @
0
40
80
$10^0$
$10^1$

Fig. 5A

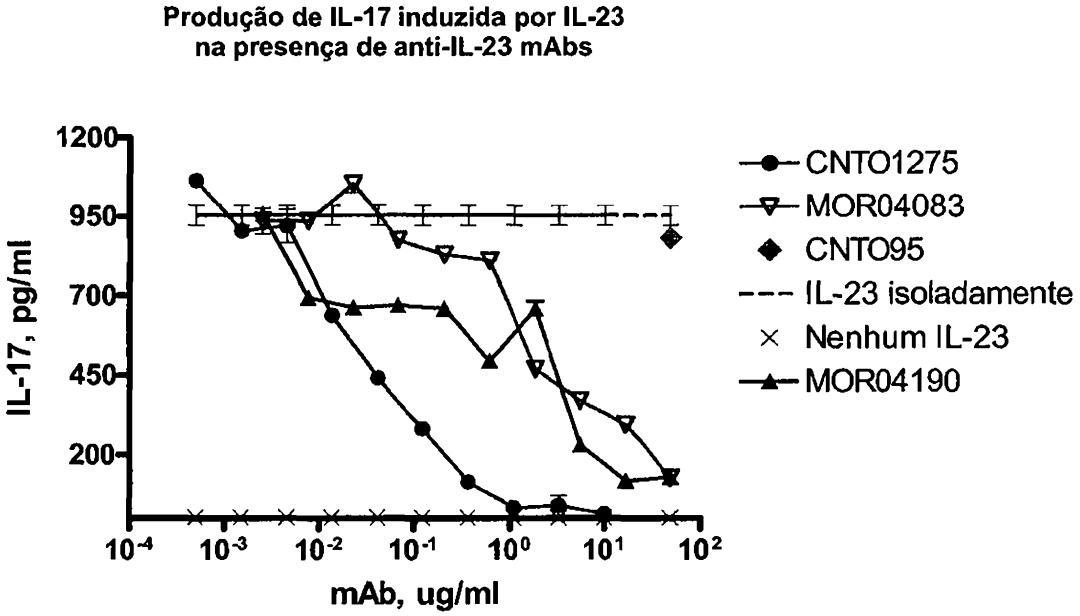

Produção de IL-17 induzida por IL-23
na presença de anti-IL-23 mAbs
IL-17, pg/ml
1200
950
700
450
200
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
mAb, ug/ml
CNTO1275
MOR04083
CNTO95
IL-23 isoladamente
Nenhum IL-23
MOR04190

Fig. 5B

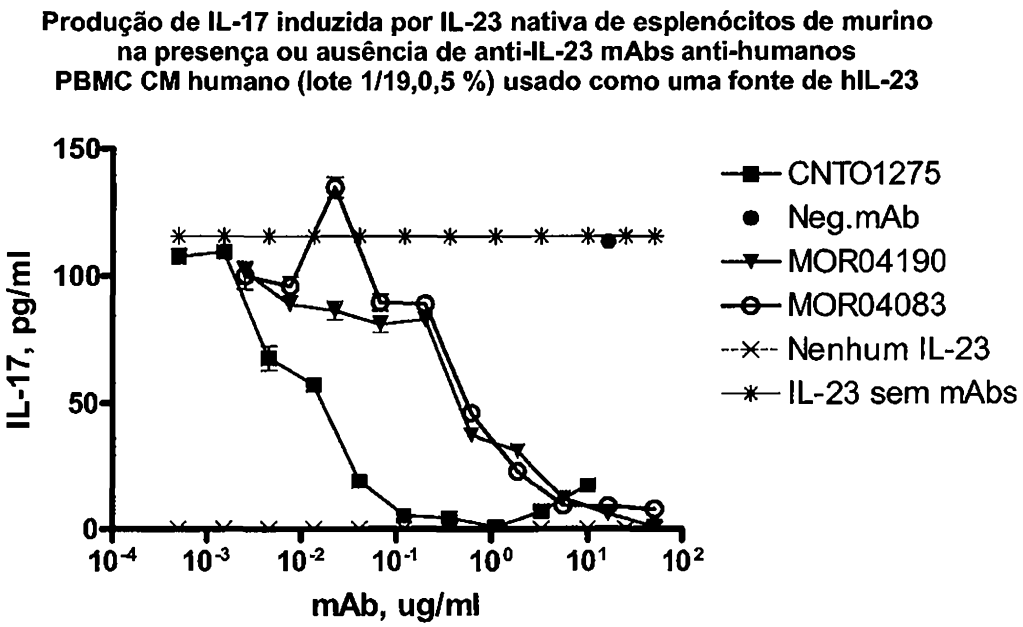

Produção de IL-17 induzida por IL-23 nativa de esplenócitos de murino
na presença ou ausência de anti-IL-23 mAbs anti-humanos
PBMC CM humano (lote 1/19,0,5 %) usado como uma fonte de hIL-23
IL-17, pg/ml
150
100
50
0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
mAb, ug/ml
CNTO1275
Neg.mAb
MOR04190
MOR04083
Nenhum IL-23
IL-23 sem mAbs

Fig. 5C

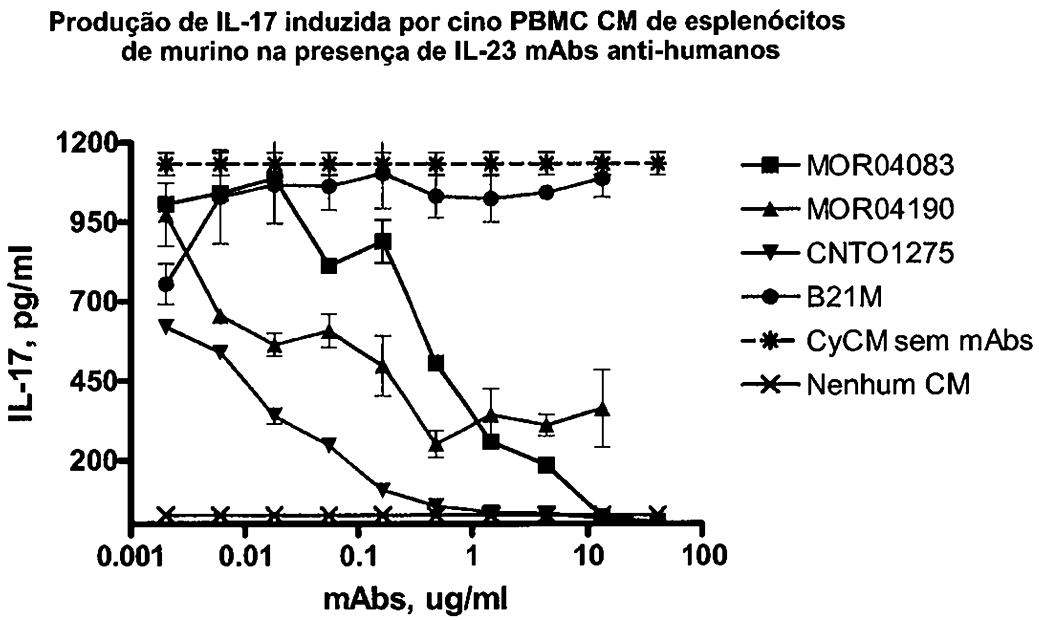

Produção de IL-17 induzida por cino PBMC CM de esplenócitos de murino na presença de IL-23 mAbs anti-humanos
IL-17, pg/ml
1200
950
700
450
200
0.001
0.01
0.1
1
10
100
mAbs, ug/ml
MOR04083
MOR04190
CNTO1275
B21M
CyCM sem mAbs
Nenhum CM

Fig. 6

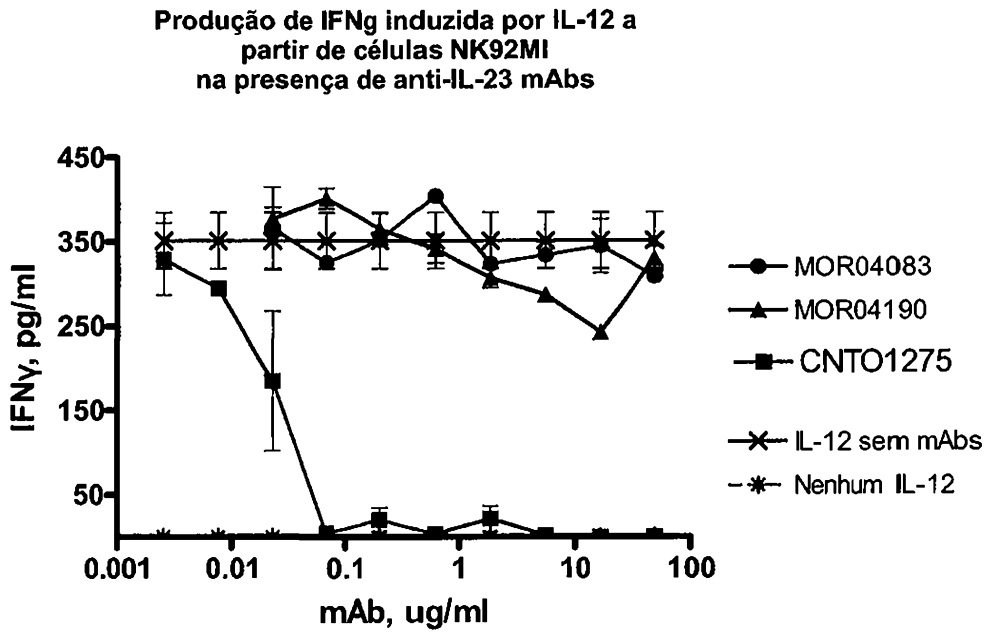

Produção de IFNg induzida por IL-12 a
partir de células NK92MI
na presença de anti-IL-23 mAbs
IFNγ, pg/ml
450
350
250
150
50
0.001
0.01
0.1
1
10
100
mAb, ug/ml
MOR04083
MOR04190
CNTO1275
IL-12 sem mAbs
Nenhum IL-12

Fig. 7A

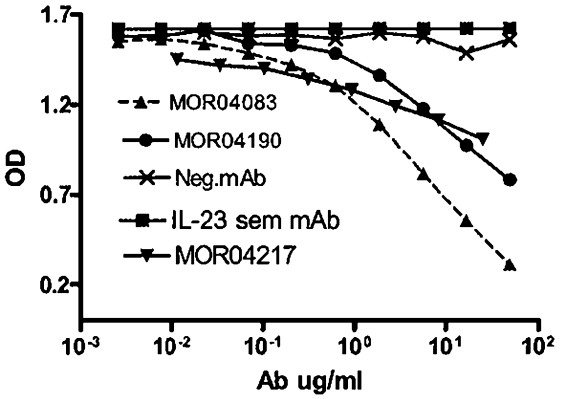
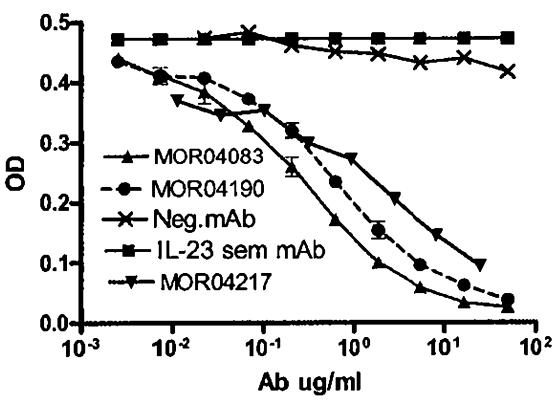



Fig. 7B



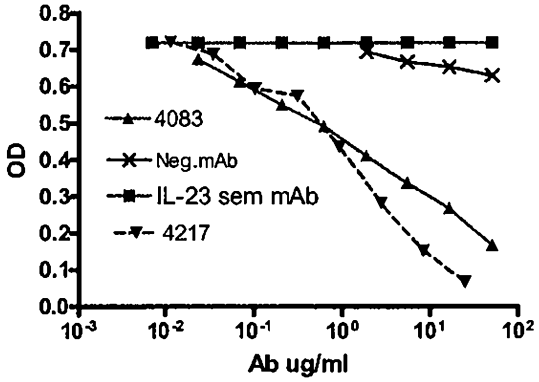




Fig. 7C

Fig. 8

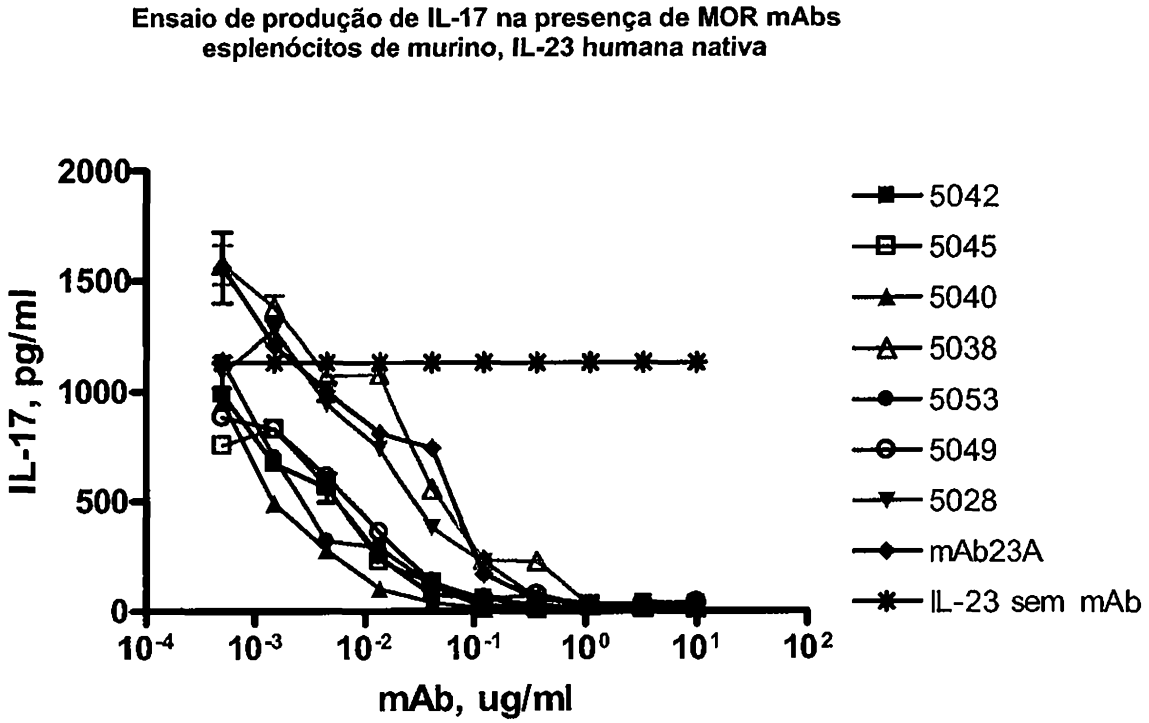

Ensaio de produção de IL-17 na presença de MOR mAbs
esplenócitos de murino, IL-23 humana nativa
IL-17, pg/ml
2000
1500
1000
500
0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
mAb, ug/ml
5042
5045
5040
5038
5053
5049
5028
mAb23A
IL-23 sem mAb

Fig. 9

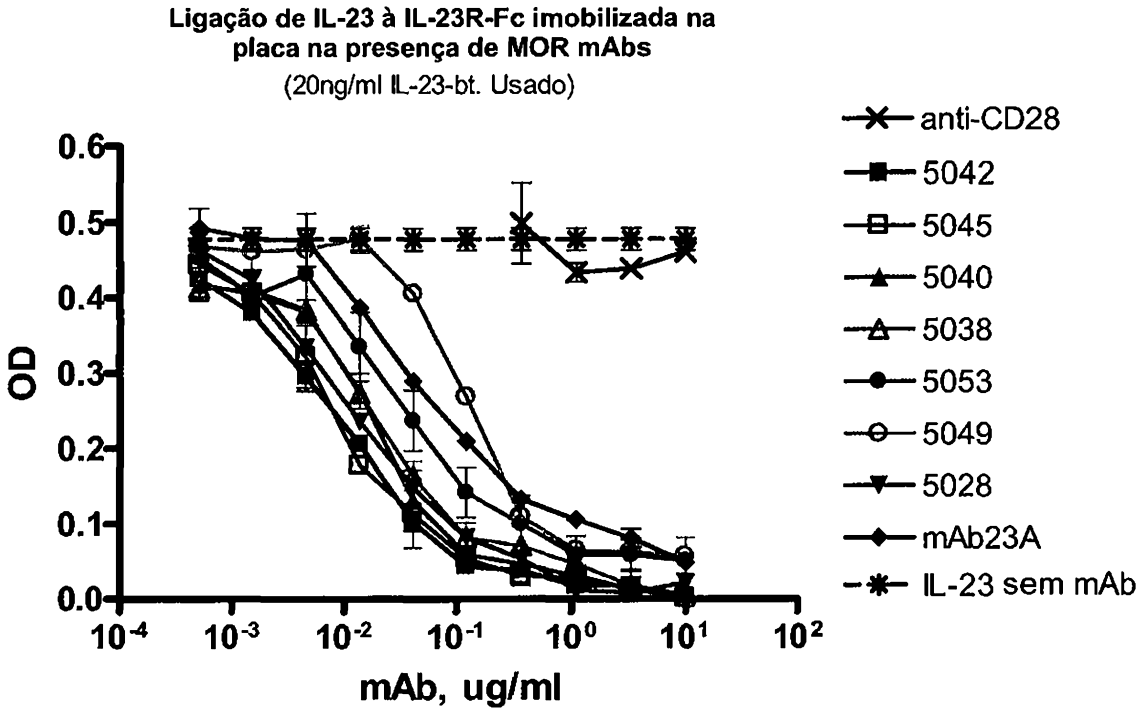

Ligação de IL-23 à IL-23R-Fc imobilizada na placa na presença de MOR mAbs
(20ng/ml IL-23-bt. Usado)
OD
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
mAb, ug/ml
anti-CD28
5042
5045
5040
5038
5053
5049
5028
mAb23A
IL-23 sem mAb

Fig. 10

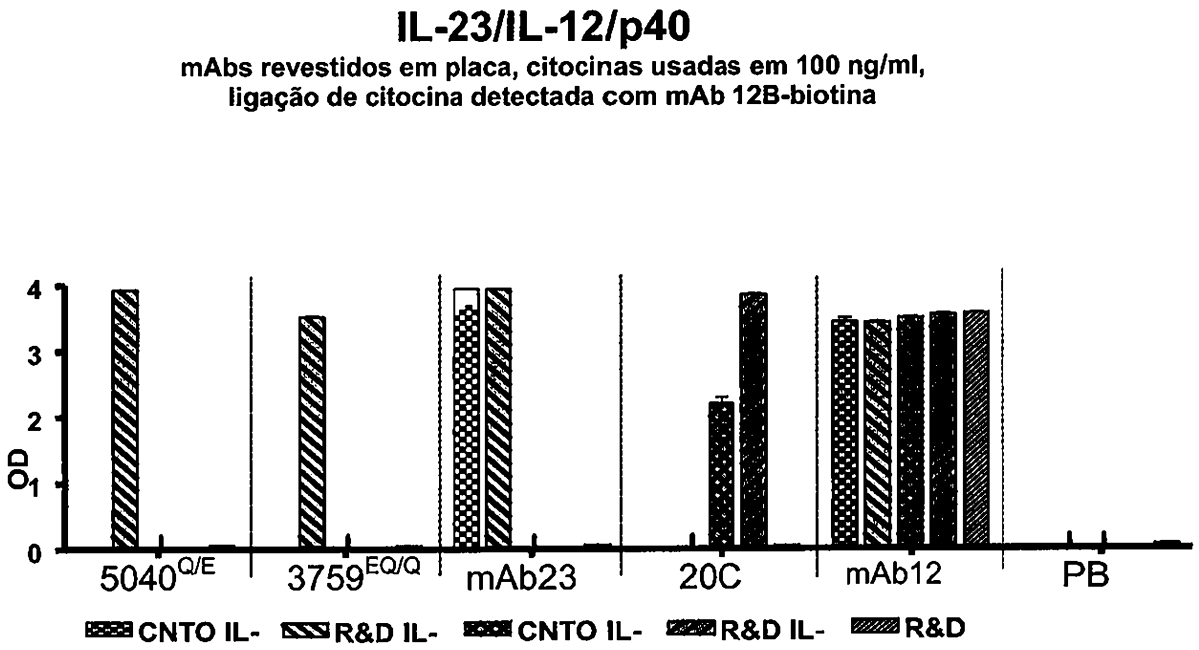

IL-23/IL-12/p40
mAbs revestidos em placa, citocinas usadas em 100 ng/ml,
ligação de citocina detectada com mAb 12B-biotina
OD
4
3
2
1
0
5040Q/E
3759EQ/Q
mAb23
20C
mAb12
PB
CNTO IL-
R&D IL-
CNTO IL-
R&D IL-
R&D

Fig. 11A

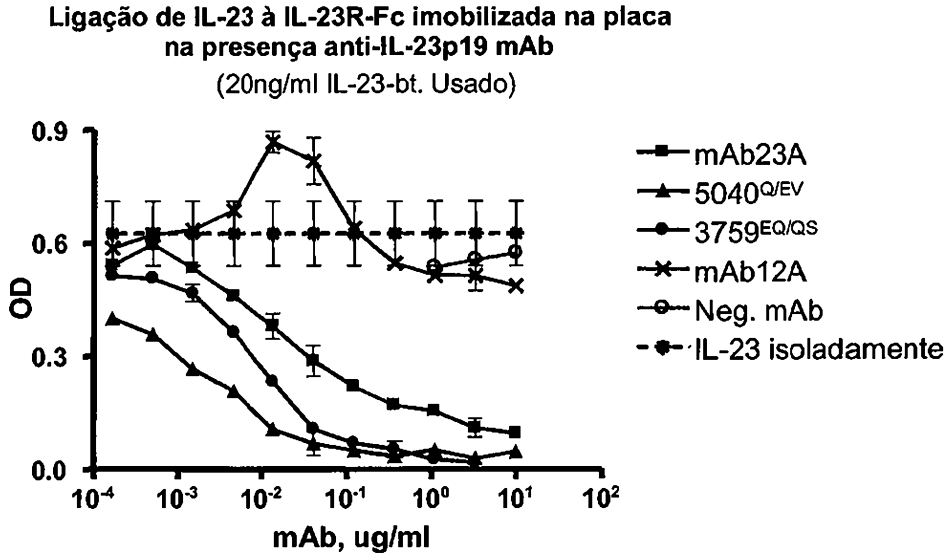

Ligação de IL-23 à IL-23R-Fc imobilizada na placa
na presença anti-IL-23p19 mAb
(20ng/ml IL-23-bt. Usado)
OD
0.9
0.6
0.3
0.0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
mAb, ug/ml
mAb23A
5040Q/EV
3759EQ/QS
mAb12A
Neg. mAb
IL-23 isoladamente

Fig. 11B

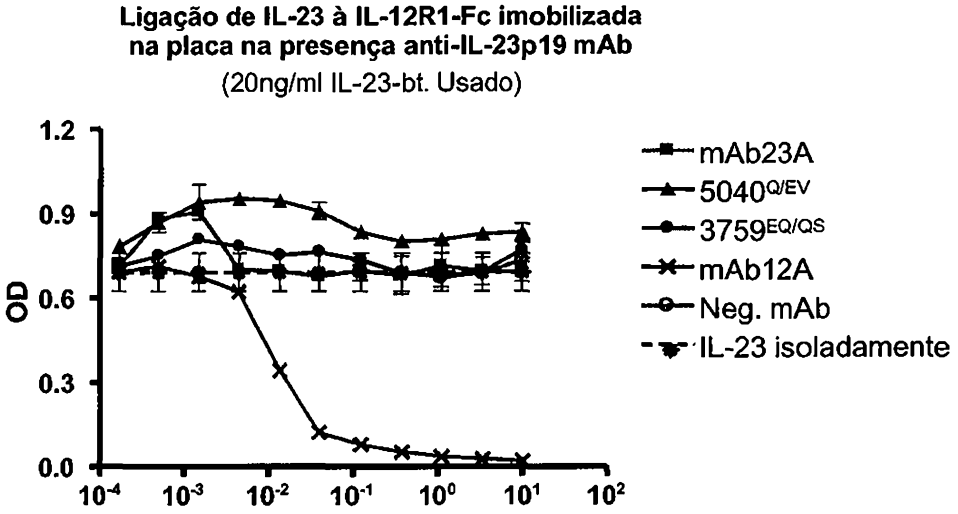

Ligação de IL-23 à IL-12R1-Fc imobilizada
na placa na presença anti-IL-23p19 mAb
(20ng/ml IL-23-bt. Usado)
OD
1.2
0.9
0.6
0.3
0.0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
mAb23A
5040Q/EV
3759EQ/QS
mAb12A
Neg. mAb
IL-23 isoladamente

Fig. 11C

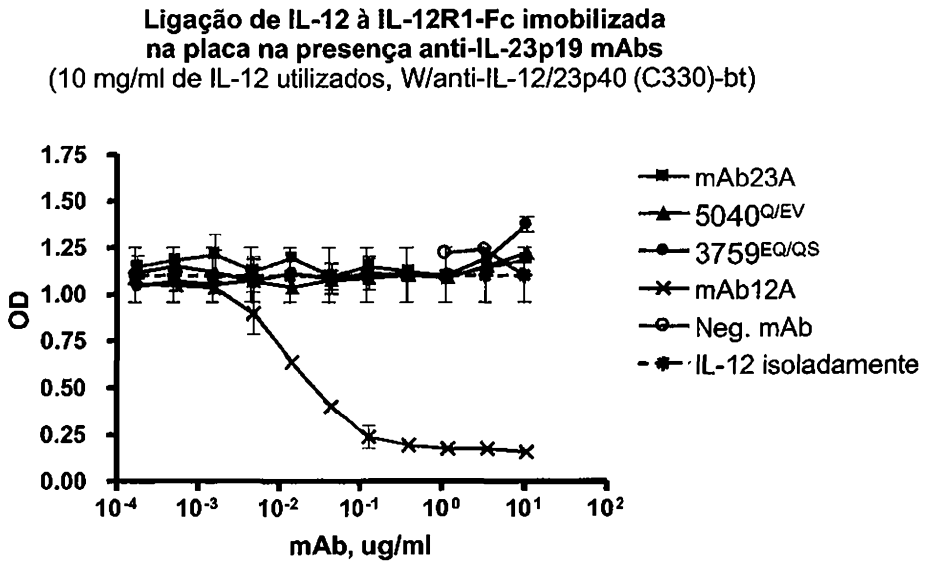

Ligação de IL-12 à IL-12R1-Fc imobilizada
na placa na presença anti-IL-23p19 mAbs
(10 mg/ml de IL-12 utilizados, W/anti-IL-12/23p40 (C330)-bt)
OD
1.75
1.50
1.25
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
mAb, ug/ml
mAb23A
5040Q/EV
3759EQ/QS
mAb12A
Neg. mAb
IL-12 isoladamente

Fig. 12

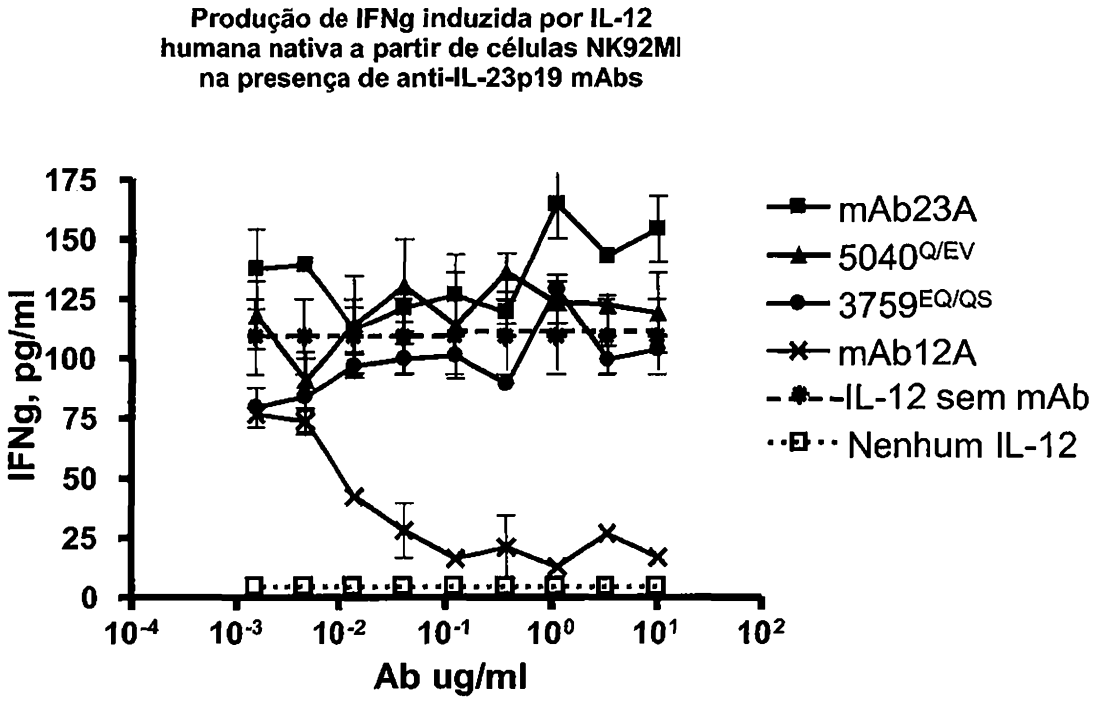

Produção de IFNg induzida por IL-12
humana nativa a partir de células NK92MI
na presença de anti-IL-23p19 mAbs
IFNg, pg/ml
175
150
125
100
75
50
25
0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
Ab ug/ml
mAb23A
5040Q/EV
3759EQ/QS
mAb12A
IL-12 sem mAb
Nenhum IL-12

Fig. 13

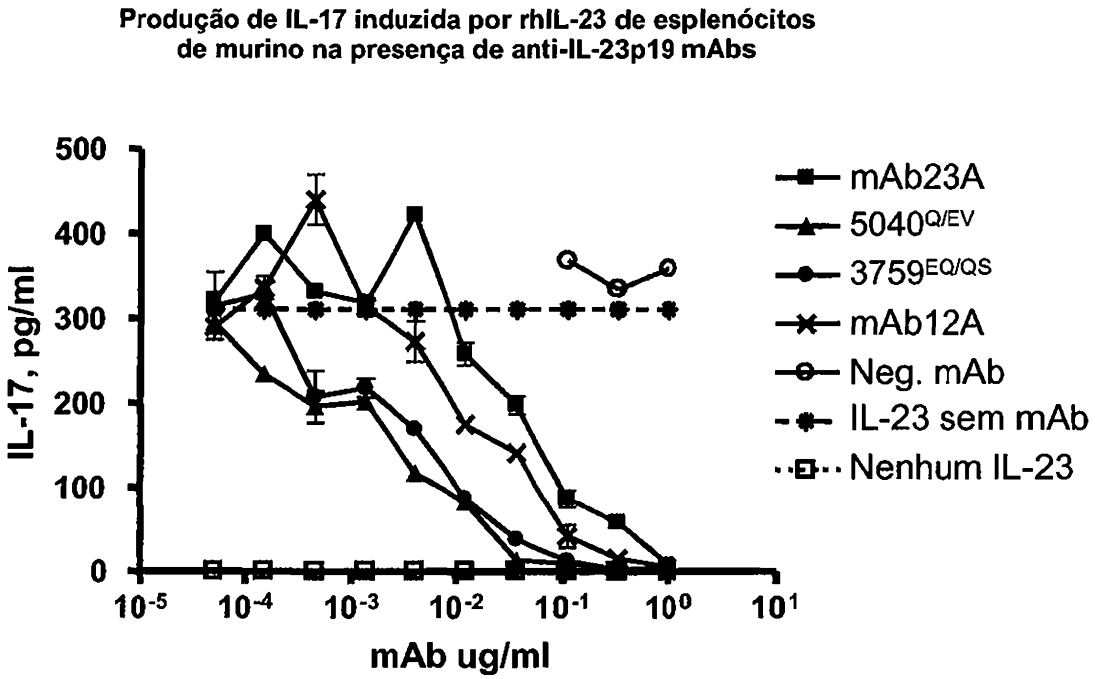

Produção de IL-17 induzida por rhIL-23 de esplenócitos
de murino na presença de anti-IL-23p19 mAbs
IL-17, pg/ml
500
400
300
200
100
0
10-5
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
mAb ug/ml
mAb23A
5040Q/EV
3759EQ/QS
mAb12A
Neg. mAb
IL-23 sem mAb
Nenhum IL-23

Fig. 14

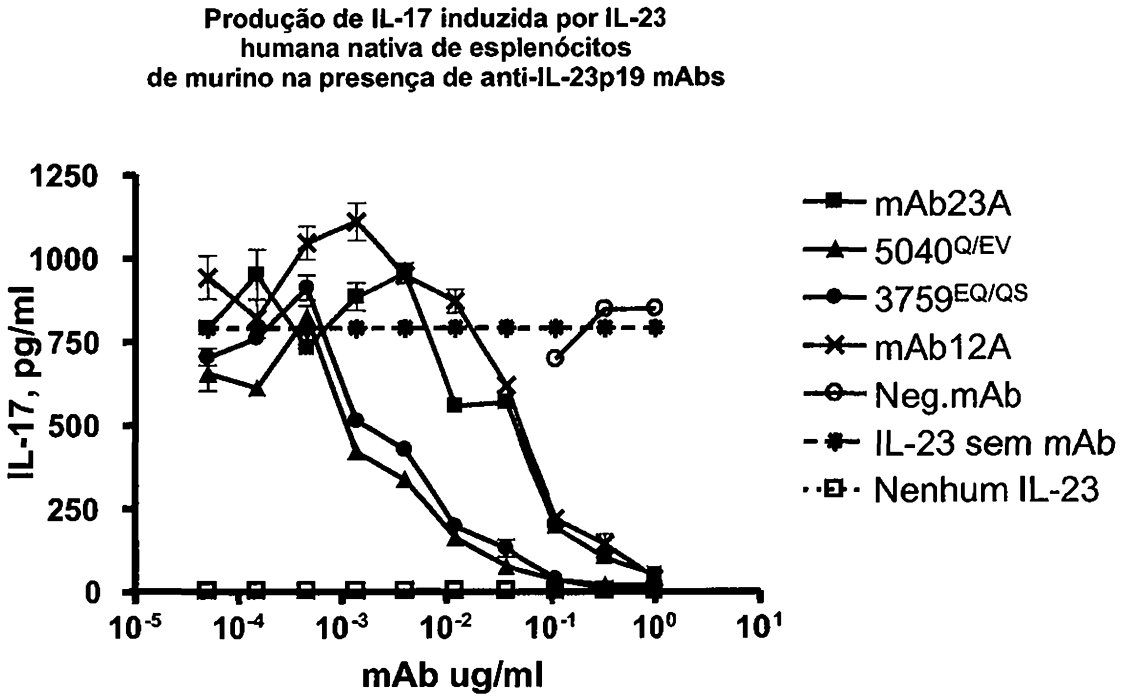

Produção de IL-17 induzida por IL-23
humana nativa de esplenócitos
de murino na presença de anti-IL-23p19 mAbs
IL-17, pg/ml
1250
1000
750
500
250
0
10-5
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
mAb ug/ml
mAb23A
5040Q/EV
3759EQ/QS
mAb12A
Neg.mAb
IL-23 sem mAb
Nenhum IL-23

Fig. 15

**Produção de IL-17 induzida por cino IL-23 nativa de esplenócitos de murino na presença de anti-IL-23p19 mAbs**

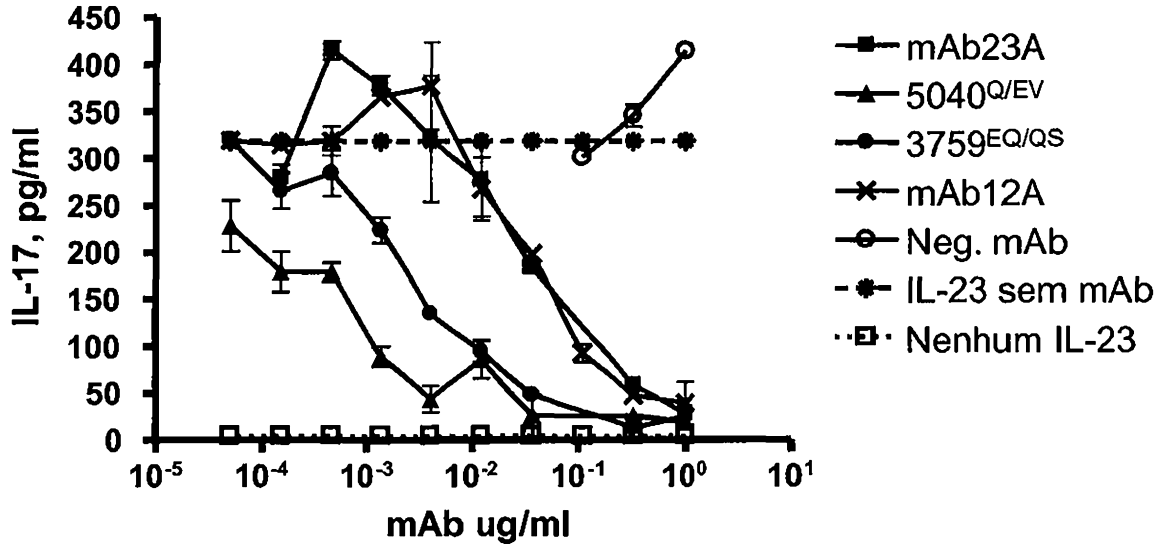


Fig. 16A

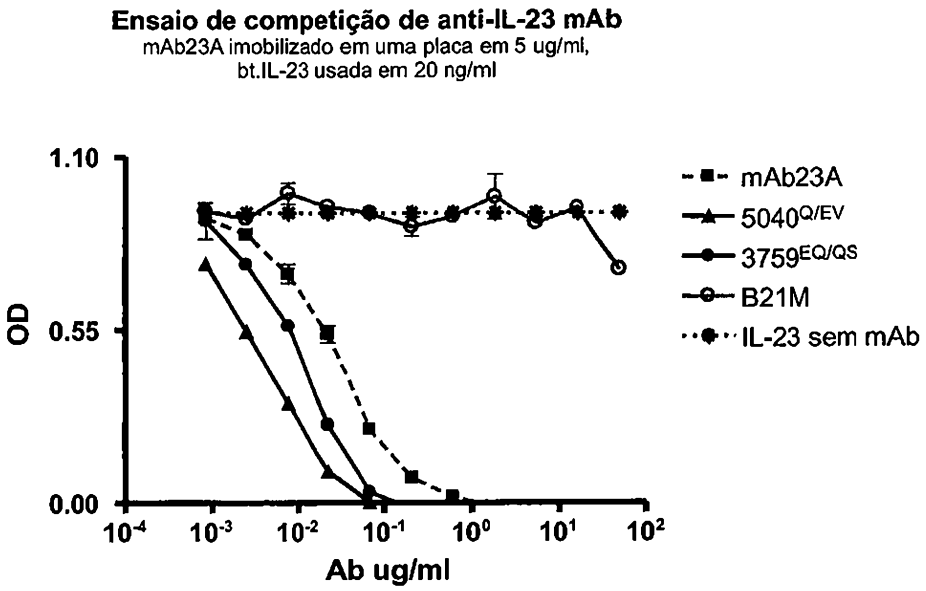

Ensaio de competição de anti-IL-23 mAb
mAb23A imobilizado em uma placa em 5 ug/ml,
bt.IL-23 usada em 20 ng/ml
1.10
0.55
0.00
OD
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
Ab ug/ml
mAb23A
5040Q/EV
3759EQ/QS
B21M
IL-23 sem mAb

Fig. 16B

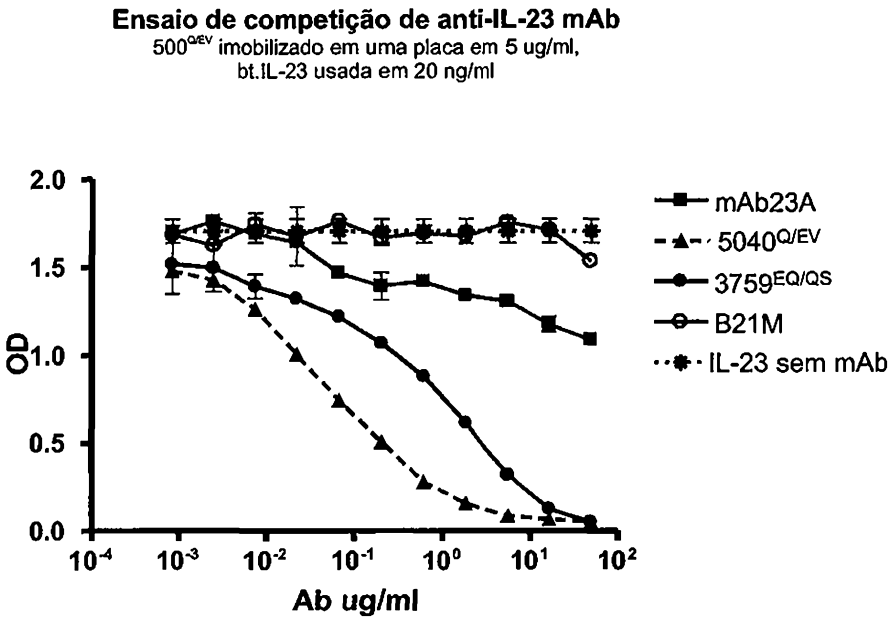
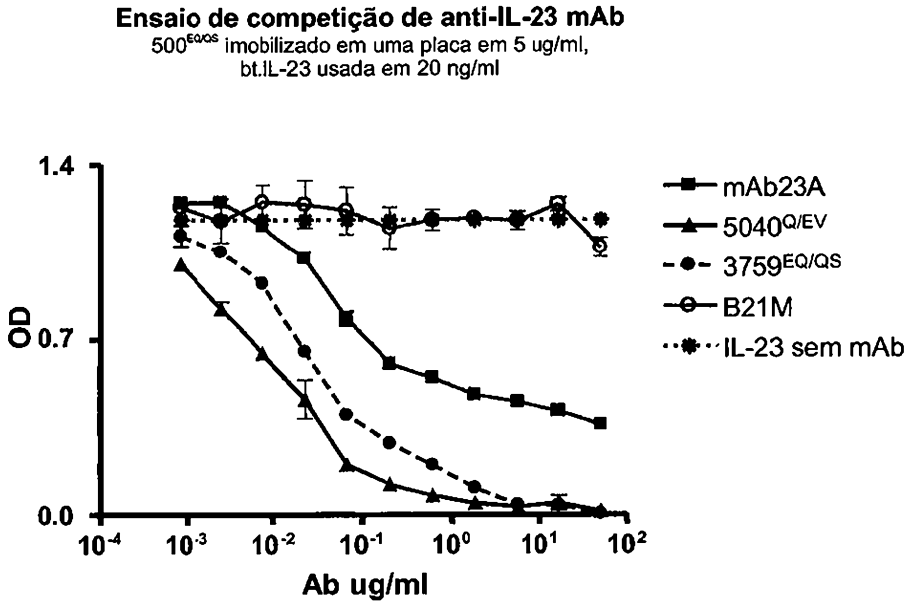

Ensaio de competição de anti-IL-23 mAb
500Q/EV imobilizado em uma placa em 5 ug/ml,
bt.IL-23 usada em 20 ng/ml
OD
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
Ab ug/ml
mAb23A
5040Q/EV
3759EQ/QS
B21M
IL-23 sem mAb

Fig. 16C


Ensaio de competição de anti-IL-23 mAb
500EQ/QS imobilizado em uma placa em 5 ug/ml,
bt.IL-23 usada em 20 ng/ml
1.4
0.7
0.0
OD
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
Ab ug/ml
mAb23A
5040Q/EV
3759EQ/QS
B21M
IL-23 sem mAb