



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 313 039**

51 Int. Cl.:
A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04750581 .3**

96 Fecha de presentación : **23.04.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1631312**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.03.2006**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para la terapia de enfermedad inflamatoria intestinal.**

30 Prioridad: **23.04.2003 US 465155 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2009

73 Titular/es: **MEDAREX, Inc.**
707 State Road
Princeton, New Jersey 08540-1437, US

72 Inventor/es: **Pickford, Lesley, B.;**
Bebbington, Christopher, R.;
Yarranton, Geoffrey, T. y
King, David

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 313 039 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones y procedimientos para la terapia de enfermedad inflamatoria intestinal.

5 **Campo técnico de la invención**

La presente invención se refiere generalmente a la terapia de Enfermedad Celíaca, Enfermedad de Crohn, y Colitis Ulcerativa (colectivamente referidas como Enfermedad Inflamatoria Intestinal, o IBD). La invención se refiere más específicamente a anticuerpos contra receptor de interferón de tipo 1 así como a procedimientos terapéuticos que emplean tales anticuerpos para el tratamiento de IBD.

Descripción de la técnica relacionada

Enfermedad Celíaca, Enfermedad de Crohn, y Colitis Ulcerativa (referidas colectivamente como Enfermedad Inflamatoria Intestinal, o IBD) son enfermedades crónicas, inflamatorias del tracto gastrointestinal. Mientras que las características clínicas varían algo entre estos dos trastornos, ambos se caracterizan por dolor abdominal, diarrea (a menudo sangrante), un grupo variable de manifestaciones “extraintestinales” (tales como artritis, uveitis, cambios en la piel, etc.) y la acumulación de células inflamatorias dentro del intestino delgado y el colon (observada en biopsia patológica o en especímenes quirúrgicos).

IBD afecta tanto a niños como a adultos, y tiene una distribución por edades bimodal (un pico alrededor de 20, y un segundo pico alrededor de 40). IBD es una enfermedad crónica, de larga vida, y se agrupa a menudo con otros así llamados trastornos “autoinmunes” (por ejemplo artritis reumatoide, diabetes mellitus de tipo I, esclerosis múltiple, etc.). IBD se encuentra casi exclusivamente en el mundo industrializado. Los datos más recientes de la Clínica Mayo sugieren una incidencia general mayor de 100.000 de personas en los Estados Unidos, con datos de prevalencia en algunos estudios mayor de 1 entre 1000. Hay una tendencia clara hacia una incidencia incrementante de IBD en los Estados Unidos y Europa, en particular de la Enfermedad de Crohn. La base para este incremento no está clara actualmente. Como tal, IBD representa la segunda enfermedad autoinmune más común en los Estados Unidos (después de la artritis reumatoide).

Los interferones de tipo 1 se han detectado en el intestino de pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Por ejemplo, se comunicó que el interferón alfa se sobreexpresa en la mucosa intestinal de pacientes con Enfermedad Celíaca, una enteropatía de sensibilidad al gluten, y en la lámina propia de pacientes de Enfermedad de Crohn. Monteleone y col., Gut 48: 425-429 (2001); Fais y col., J. Interferon Res. 14: 235-238 (1994). No se ha descrito la significancia biológica de los interferones de tipo 1 en los tejidos de pacientes de esta enfermedad. Los interferones de tipo 1 no se han descrito en la circulación de individuos con Enfermedad Inflamatoria Intestinal y no está claro que papel juega, si es que juega alguno, el interferón alfa en la patología de estas enfermedades.

Los interferones de tipo 1 (es decir interferones alfa y beta) son citoquinas multifuncionales que juegan un papel crítico en una diversidad de sistemas de respuesta inmune. La producción anormal de interferones de tipo 1 está asociada con varias afecciones patológicas que incluyen rechazo de trasplantes y enfermedades autoinmunes tales como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, y diabetes insulino dependiente. Los efectos biológicos de interferones de tipo 1 están mediados a través de un único receptor de superficie celular (IFNAR) que se une a todos los interferones de tipo 1 pero no al interferón de tipo 2, interferón- γ . El receptor de interferón de tipo 1 se expresa a niveles variantes en todas las células nucleadas en el cuerpo. Se compone de dos cadenas polipeptídicas designadas IFNAR1 e IFNAR2, que, conjuntamente, constituyen el receptor de alta afinidad capaz de transducir una señal intracelular tras unión a interferón.

Un anticuerpo monoclonal de ratón, designado 64G12, dirigido contra la cadena IFNAR1 del receptor de interferón de tipo 1 humano, ha estado mostrando bloquear la actividad del receptor de interferones de tipo 1 interfiriendo con la unión de citoquinas a su receptor. (Véanse, Patentes de los Estados Unidos N^{os}.: 5.889.151, 5.886.153, 5.731.169, 5.861.258, y 5.919.453, y 6.475.983, así como Publicación de Solicitud de Patente US N° 20020055492). En modelos de trasplante de primates, 64G12, dado en conjunción con ciclosporina, ha proporcionado eficacia a largo plazo destacable en prevención de rechazo de aloinjerto de piel y enfermedad de injerto frente a hospedador. Benizri y col., J. Interferon Cytokine Res. 18: 273 (1998).

El tratamiento de IBD es variado. La terapia de primera línea incluye típicamente derivados de salicilato (por ejemplo, 5-ASA) dados oralmente o rectalmente. Las tasas de respuesta en Enfermedad de Crohn no complicada son aproximadamente el 40% (comparados con el 20% para el placebo). Los corticosteroides siguen siendo un pilar principal en el tratamiento de pacientes con enfermedad más “recalcitrante”, a pesar de los efectos secundarios perjudiciales. Las opciones de tratamiento más nuevas incluyen antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina) e inmunomoduladores (por ejemplo, Remicade -un anticuerpo humano quimérico dirigido al receptor de TNF α -).

A pesar de la investigación considerable en terapias para estos trastornos, la Enfermedad Celíaca, la Enfermedad de Crohn y la Colitis Ulcerativa siguen siendo difíciles de tratar de forma efectiva. De acuerdo con ello, queda una necesidad insatisfecha en la técnica de procedimientos mejorados para tratar tales Enfermedades del Intestino Inflamatorias. La presente invención cumple éstas y otras necesidades relacionadas.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona el uso de anticuerpos anti-receptor de interferón de tipo I para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de Enfermedad Inflamatoria Intestinal, incluyendo, por ejemplo Enfermedad Celíaca, Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerativa. Los medicamentos de la presente invención comprenden uno o más anticuerpos anti-receptor de interferón de tipo I, tales como, por ejemplo, anticuerpos anti-IFNAR, y fragmentos de cualquiera de los anticuerpos anteriormente mencionados. En algunas realizaciones, los anticuerpos de acuerdo con la presente invención pueden ser anticuerpos quiméricos, primatizados, humanizados, desinmunizados y/o humanos o fragmento de unión a receptor de los mismos. Aún realizaciones adicionales proporcionan usos de primeros y segundos medicamentos, en los que el primer medicamento administrado a un paciente afectado con IBD, en una cantidad tolerizadora y el segundo medicamento se administran al paciente en una cantidad terapéuticamente efectiva.

Así, en ciertas realizaciones de la presente invención se proporcionan anticuerpos que interfieren con unión a ligando de interferón de tipo I tales como, por ejemplo, cadenas de receptor solubles (por ejemplo IFNAR2 soluble). Otras realizaciones relacionadas proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen selectivamente a uno o más receptores de interferón de tipo I o se unen al receptor IFNAR en un modo tal que interfiere con unión a ligando, tal como, por ejemplo, mediante unión competitiva, no competitiva o incompetitiva. Realizaciones alternativas proporcionan anticuerpos que interfieren con la transducción de señales mediante el receptor IFNAR.

Los antagonistas de anticuerpos adecuados para usar en los procedimientos terapéuticos de la presente invención incluyen anticuerpos monoclonales tales como, por ejemplo, anticuerpos no humanos, quiméricos, primatizados, humanizados, desinmunizados y/o totalmente humanos o fragmentos de unión a antígenos de los mismos. Los antagonistas de anticuerpos pueden comprender adicionalmente una o más modificaciones químicas para incrementar la semivida en circulación del anticuerpo, o del fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como, por ejemplo, reticulación con polietilenglicol (es decir PEGilación).

En ciertas realizaciones preferidas, el antagonista es un anticuerpo que se une al o cerca del epítopo antigénico de IFNAR1 reconocido por el anticuerpo monoclonal murino designado 64G12 y/o la variante modificada humana designada CPI-1697. El anticuerpo monoclonal 64G12 se depositó en la ECACC (Colección Europea de Cultivos de Células Animales Porton Down Salisbury, Wiltshire SP4 056, Reino Unido) en el 26 de feb. de 1992.

Realizaciones adicionales de la presente invención comprenden adicionalmente uno o más productos terapéuticos adicionales tales como, por ejemplo, un inmunosupresor, un antiinflamatorio, un esteroide, un agente inmunomodulador, una citoquina, y un antagonista de TNF. Los inmunosupresores ejemplares incluyen azatiopirina, metotrexato, ciclosporina, FK506, rapamicina, y micofenolato de mofetilo. Los antiinflamatorios ejemplares incluyen ácido 5-aminosalicílico, sulfasalazina y olsalazina. Los esteroides ejemplares incluyen corticosteroides, glucocorticosteroides, prednisona, prednisolona, hidrocortisona, metilprednisolona, dexametasona y ACTH. Los agentes inmunomoduladores ejemplares incluyen PVAC, ligando anti-CD40, anti-CD40, natalizumab (AntegrenTM), anti-VCAM1 y anti-ICAM1. Las citoquinas ejemplares incluyen IL-10. Los antagonistas de TNF ejemplares incluyen infliximab (Remicade[®]), etanercept (Enbrel[®]), adalimumab (HumiraTM), y CDP870.

Los medicamentos se pueden desear para administrarse mediante cualquier vía adecuada de administración tal como para asegurar biodisponibilidad adecuada. Así, en ciertas realizaciones, las vías de administración adecuadas pueden incluir bolo intravenoso, bolo intravenoso lento, o infusión. Mediante otras realizaciones, se puede llevar a cabo administración del antagonista de interferón tipo I por inyección subcutánea, intramuscular, transdérmica o intradérmica. Las realizaciones alternativas proporcionan que la administración pueda lograrse por administración mucosal tal como, por ejemplo, por inhalación o por administración oral.

En ciertas realizaciones que emplean un anticuerpo y/o un fragmento de unión a antígeno del mismo, la vía de administración puede ser subcutánea, intramuscular y/o intravenosa. La administración intravenosa puede ser como una inyección de bolo, como una inyección de bolo lenta o como una infusión.

Las realizaciones alternativas proporcionan que los anticuerpos puedan administrarse transdérmicamente, intradérmicamente, y mucosalmente.

Las dosificaciones ejemplares pueden estar entre 0,1 y 50 mg/kg de peso corporal, inclusive, más preferiblemente entre 0,5 y 10 mg/kg de peso corporal, y aún más preferiblemente entre 2 y 5 mg/kg, inclusive. En ciertas realizaciones, se pueden administrar dosis repetidas múltiples.

En realizaciones de la presente invención que emplean anticuerpos, la frecuencia de dosificación puede estar en el intervalo de una vez al día a una vez al mes, inclusive, más preferiblemente, en el intervalo de dos veces por semana a cada dos semanas, inclusive, y aún más preferiblemente aproximadamente una vez por semana. Alternativamente, el antagonista se puede dosificar a aproximadamente la semivida *in vivo* si se proporciona exposición adecuada.

Ciertas realizaciones diferentes de la presente invención proporcionan que los anticuerpos se puedan administrar en combinación con otros productos terapéuticos tales como, por ejemplo, un inmunosupresor, un antiinflamatorio,

un esteroide, un agente inmunomodulador, una citoquina, y un antagonista de TNF tal como aquellos identificados anteriormente en este documento.

Aún realizaciones adicionales de la presente invención proporcionan el uso de medicamentos primero y segundo para tratar a un paciente que sufre de una Enfermedad Inflamatoria Intestinal los usos de los cuales comprenden las etapas de (a) administrar como el medicamento primero una dosis tolerizadora de un anticuerpo anti-receptor de interferón de tipo 1 y (b) administrar como un segundo medicamento una dosis efectiva de un antagonista de interferón de tipo 1. En realizaciones preferidas el antagonista de interferón y/o anticuerpo de interferón pueden ser contra el interferón de receptor de tipo 1 (IFNAR). Anticuerpos anti-interferón de tipo 1 ejemplares incluyen anticuerpos quiméricos, primatizados, humanizados, desinmunizados y humanos. Ciertos anticuerpos anti-IFNAR preferidos incluyen aquellos que se unen a IFNAR1 tales como, por ejemplo, el anticuerpo monoclonal murino designado 64G12 y/o la variante humana modificada designada CPI-1697.

Los intervalos preferidos para la dosis tolerizadora del anticuerpo anti-receptor de tipo 1 de interferón están entre 10 mg/kg de peso corporal a 50 mg/kg de peso corporal, inclusive. Los intervalos más preferidos para la dosis tolerizadora están entre 20 mg/kg de peso corporal y 40 mg/kg de peso corporal, inclusive. Intervalos aún más preferidos para la dosis tolerizadora están entre 20 y 25 mg/kg de peso corporal, inclusive.

En estos regímenes terapéuticos, la dosis terapéuticamente efectiva de anticuerpo anti-receptor de interferón de tipo 1 se administra preferiblemente en el intervalo de 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal, inclusive. Dosis efectivas más preferidas terapéuticamente están en el intervalo de 0,2 a 5 mg/kg de peso corporal, inclusive. Dosis efectivas aún más preferidas terapéuticamente están en el intervalo de 0,5 a 2 mg/kg de peso corporal, inclusive. En realizaciones alternativas, la dosis o las dosis terapéuticas subsiguientes pueden estar en la misma formulación o en diferentes formulaciones como la dosis tolerizadora y/o se pueden administrar mediante la misma vía o mediante diferentes vías como la dosis tolerizadora. Preferiblemente las dosis terapéuticas se administran intravenosamente, intramuscularmente, o subcutáneamente.

Breve descripción de las figuras

Las figuras 1A-1D y 2A-2D son gráficas que muestran el efecto de CPI-1697 en pesos corporales de CTT afectados de IBD. Las figuras 1A-1D muestran resultados para estudios de Fase I. Las figuras 2A-2D muestran resultados para estudios de Fase II. El cambio en peso corporal porcentual de cada animal se calculó usando su peso corporal en el Día 0, el día de iniciación de la dosificación como la línea base. Se trazaron cambios en porcentaje individual y en peso corporal promedio de grupo y pesos corporales promedio de grupo de animales supervivientes. Se llevaron a cabo análisis estadísticos (ANOVA de una dirección) para todos los puntos temporales para los grupos tratados y control.

** en la semana 55 del estudio de fase I, los animales tratados tienen cambios en el peso corporal estadísticamente significativos comparados con los controles ($p < 0,01$). Las flechas representan los programas de dosificación.

Las figuras 3A-3D y 4A-4D son gráficas que muestran el efecto de CPI-1697 en valores de diarrea de CTT afectados con IBD. Las figuras 3A-3D muestran resultados para estudios de Fase I. Las figuras 4A-4D muestran resultados para estudios de Fase II. Se trazaron valores de diarrea en promedio semanalmente (promedio de cinco días semanales) de animal superviviente para los grupos control y tratados. Se trazaron también los valores de diarrea promedio semanales medios de grupo y el cambio de valor de la diarrea semanal medio del grupo en porcentaje con la Semana-1, correctos antes de la iniciación de la dosificación como la línea base. Las flechas representan los programas de dosificación.

Las figuras 5A-5D y 6A-6D son gráficas que muestran el efecto de CPI-1697 en valores de actividad de CTT afectados con IBD. Las figuras 5A-5D muestran resultados para estudios de Fase I. Las figuras 6A-6D muestran resultados para estudios de Fase II. Los valores de actividad que representan la infiltración de neutrófilos (promedio de tres muestras de biopsia) de animal que sobrevive se trazaron para el grupo control y los grupos tratados. Los valores de actividad medios de grupo y el cambio de valores de actividad semanal medios de grupo en porcentaje con la Semana-1 para la Fase I y con la Semana-2 para la Fase II, se trazaron también, antes de la iniciación de dosificación como la línea base. Las flechas representan los programas de dosificación.

Las figuras 7A-7D y 8A-8D son gráficas que muestran el efecto de CPI-1697 en valores de cronicidad en CTT afectados de IBD. Las figuras 7A-7D muestran resultados para estudios de Fase I. Las figuras 8A-8D muestran resultados para estudios de Fase II. Los valores de cronicidad representan la extensión de cambios permanentes en la morfología del colon, incluyendo pérdida de criptas y alteraciones en estructuras glandulares (promedio de tres muestras de biopsia) de animal superviviente se trazaron para el grupo control y los grupos tratados. Los valores de actividad medios del grupo y el cambio de valores de cronicidad semanal medio del grupo en porcentaje con la Semana-1 para la Fase I y con la Semana-2 para la Fase II, se trazaron también, antes de la iniciación de dosificación como la línea base. Las flechas representan los programas de dosificación.

Las figuras 9A-9D y 10A-10D son gráficas que muestran el efecto de CPI-1697 en valores de hiperplasia de CTT afectados por IBD. Las figuras 9A-9D muestran resultados para estudios de Fase I. Las figuras 10A-10D muestran resultados para estudios de Fase II. Se trazaron los valores de hiperplasia que representan incremento anormal en

grosor del tejido mucosal, incluyendo tejido celular e intersticial (promedio de tres muestras de biopsia) de animal superviviente para el grupo control y los grupos tratados. Los valores de actividad medios del grupo y el cambio de valores de hiperplasia semanal medio del grupo en porcentaje con la Semana-1 para la Fase I y con la Semana-2 para la Fase II, se trazaron también, antes de la iniciación de dosificación como la línea base. Las flechas representan los programas de dosificación.

Las figuras 11A-11B son gráficas que muestran niveles de fármaco CPI-1697 de suero de animales individuales en estudios de Fase I (figura 11A) y de Fase II (figura 11B).

Las figuras 12A-12B son gráficas de barras que muestran niveles de respuesta de PAHA relativos de animales tratados con CPI-1697 en estudios de Fase I (figura 12A) y de Fase II (figura 12B).

La figura 13 es una gráfica que muestra niveles de expresión de IFNAR1 normalizados en células B de animales individuales en el estudio de la Fase II. Los niveles de expresión de IFNAR1 en células B de animales individuales en diversos puntos temporales se normalizaron mediante los niveles de IFNAR1 medios de los animales control en cada punto temporal con la asunción de que los niveles de IFNAR1 permanecieron relativamente estables en animales control.

Las figuras 14A-14B (SEQ ID N^{os}.: 1-2) muestran las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada (H3) (figura 14A) (SEQ ID N^o: 1) y de la cadena ligera (K1) (figura 14B) (SEQ ID N^o: 2) del anticuerpo CPI-1697 anti-IFNAR-1 humanizado. Las CDR están subrayadas.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere generalmente a composiciones y a su uso en procedimientos terapéuticos para el tratamiento de Enfermedad Inflamatoria Intestinal (IBD), particularmente Enfermedad Celíaca, Enfermedad de Crohn, y colitis ulcerativa. Como se describe adicionalmente más adelante, las composiciones ilustrativas de la presente invención incluyen anticuerpos anti-IFNAR, anticuerpos anti-receptor de interferón de tipo I y/o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Sin desear estar limitados por cualquier teoría particular de operación, los anticuerpos de inventiva ejemplares pueden interferir y/o competir con unión a ligando y/o con transducción de señales mediada por interferón. Preferiblemente, anticuerpos anti-receptor de interferón de tipo I de la presente invención tienen una semivida *in vivo* circulatoria y, como una consecuencia de ello, son efectivas en lograr una respuesta terapéutica prolongada. Los procedimientos para prolongar las semividas de anticuerpos *in vivo* incluyen, por ejemplo, construcción de proteínas de fusión tales como fusiones de F_c de inmunoglobulinas o conjugación de polietilenglicol (PEGilación).

Adicionalmente, se proporcionan en el presente documento usos en los que la administración de uno o más anticuerpos de receptor de interferón de tipo I se emplean en un régimen tolerizador, que evita y/o minimiza una respuesta inmune al anticuerpo terapéutico, régimen tolerizador que es seguido por un régimen terapéutico.

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique específicamente lo contrario, procedimientos convencionales de virología, inmunología, microbiología, biología molecular y técnicas de DNA recombinante dentro de la habilidad en la técnica, muchos de los cuales se describen más adelante con el propósito de ilustración. Tales técnicas se explican totalmente en la bibliografía. Véanse, por ejemplo, Sambrook y col. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2^a edición, 1989); Maniatis y col. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (1982); *DNA Cloning: A Practical Approach*, vol. I & II (D. Glover, ed.); *Oligonucleotide Synthesis* (N. Gait, ed., 1984); *Nucleic Acid Hybridization* (B. Hames & S. Higgins, editores, 1985); *Transcription and Translation* (B. Hames & S. Higgins, editores, 1984); *Animal Cell Culture* (R. Freshney, ed., 1986); Perbal, *A Practical Guide to Molecular Cloning* (1984).

Como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas del singular “un”, “uno”, y “el” incluyen referencias plurales a menos que el contenido claramente dicte lo contrario.

Antagonistas de Anticuerpos de Interferón de Tipo I

Como se señala anteriormente, la presente invención se refiere generalmente a composiciones que comprenden antagonistas de interferones de tipo I así como procedimientos terapéuticos de uso que emplean tales composiciones para el tratamiento de Enfermedad Inflamatoria Intestinal (IBD), particularmente Enfermedad Celíaca, Enfermedad de Crohn, y colitis ulcerativa. En ciertas realizaciones de la presente invención, los antagonistas de interferón de tipo I incluyen anticuerpos anti-IFNAR y/o fragmentos de los mismos que se unen a un receptor de interferón de tipo I y por lo tanto bloquean la unión de su ligando (es decir interferón alfa, interferón beta o interferón omega). Alternativamente o adicionalmente, los antagonistas de interferón de tipo I pueden ser anticuerpos anti-interferón de tipo I y/o fragmentos de los mismos que se unen a un interferón de tipo I (es decir interferón alfa, interferón beta o interferón omega) y por lo tanto bloquean su unión a su receptor (es decir IFNAR). La inhibición mediada por anticuerpos de unión a ligando puede tener lugar por inhibición competitiva, no competitiva o incompetitiva. Alternativamente, los antagonistas basados en anticuerpos pueden actuar impidiendo señalización intracelular a través del receptor del interferón de tipo I.

Así, están incluidos en el alcance de la presente invención anticuerpos anti-IFNAR y anti-interferón de tipo 1 quiméricos, primatizados, protegidos, humanizados, desinmunizados y humanos y/o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Así, y como se describe adicionalmente en el presente documento, los anticuerpos de la invención comprenden partes, variantes y/o derivados de cualesquiera de los anticuerpos precedentes.

Un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se dice que “une específicamente”, “une inmunológicamente”, y/o es “inmunológicamente reactivo” a un receptor de interferón de tipo 1 si reacciona a un determinado nivel (en, por ejemplo, un ensayo de ELISA) con IFNAR o con un interferón de tipo 1, pero no con un receptor de interferón de tipo 2, interferón- γ o con cualquier otra proteína.

“Unión inmunológica”, como se usa en el presente documento, generalmente se refiere a interacciones no covalentes del tipo que tiene lugar entre un anticuerpo, o fragmento del mismo, y el interferón de tipo 1 o receptor para el que el anticuerpo es específico. La fuerza, o afinidad, de interacciones de unión inmunológica se pueden expresar en términos de la constante de disociación (K_d) de la interacción, en la que una K_d menor representa una afinidad mayor. Las propiedades de unión inmunológica de anticuerpos seleccionados se pueden cuantificar usando procedimientos bien conocidos en la técnica. Un procedimiento tal implica medir las velocidades de formación y disociación de complejo de sitio de unión a antígeno/antígeno, en el que esas velocidades dependen de las concentraciones de los compañeros de complejo, de la afinidad de la interacción, y de los parámetros geométricos que influyen igualmente en la velocidad en ambas direcciones. Así, tanto la “constante de velocidad de activación” (K_{on}) como la “constante de velocidad de desactivación” (K_{off}) se pueden determinar mediante cálculo de las concentraciones y las velocidades reales de asociación y disociación. La razón de K_{off}/K_{on} permite la cancelación de todos los parámetros no relacionados con afinidad, y es así igual a la constante de disociación K_d . Véase, generalmente, Davies y col., *Annual Rev. Biochem.* 59: 439-473 (1990).

Un “sitio de unión a antígenos”, o “parte de unión” de un anticuerpo hace referencia a la parte de la molécula de inmunoglobulina que participa en la unión a antígeno. El sitio de unión a antígeno está formado por residuos de aminoácidos de las regiones variable N-terminal (“V”) de las cadenas pesada (“H”) y ligera (“L”). Tres tramos altamente divergentes dentro de las regiones V de las cadenas pesada y ligera se refieren como “regiones hipervariables” que se interponen entre tramos flanqueantes más conservados conocidos como “regiones marco”, o “FR”. Así el término “FR” hace referencia a secuencias de aminoácidos que se encuentran naturalmente entre regiones hipervariables en inmunoglobulinas. En una molécula de anticuerpo, las tres regiones hipervariables de una cadena ligera y las tres regiones hipervariables de una cadena pesada se disponen relativamente unas con respecto a otras en espacio tridimensional para formar una superficie de unión a antígeno. La superficie de unión a antígeno es complementaria a la superficie tridimensional de un antígeno unido, y las tres regiones hipervariables de cada una de las cadenas pesadas y ligeras se refieren como “regiones determinantes de complementariedad”, o “CDR”.

Se pueden preparar anticuerpos mediante cualquiera de una diversidad de técnicas conocidas por aquellos de habilidad normal en la técnica. Véase, por ejemplo, Harlow y Lane, *Anticuerpos: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1988). En general, se pueden producir anticuerpos mediante técnicas de cultivo celular, que incluyen la generación de anticuerpos monoclonales como se describen en el presente documento, o por medio de genes de transfección de anticuerpos en huéspedes bacterianos o huéspedes de células de mamífero adecuados, con el fin de permitir la producción de anticuerpos recombinantes. En una técnica, se inyecta inicialmente un inmunógeno que comprende receptor de interferón de tipo 1 o parte del mismo dentro de una amplia diversidad de mamíferos (por ejemplo, ratones, ratas, conejos, ovejas, hámsters, cabras o ratones transgénicos con repertorios de anticuerpos humanos). Alternativamente, el inmunógeno puede comprender células o extractos celulares que contienen receptor, dominios extracelulares del receptor (naturales o recombinantes). Una respuesta inmune superior puede facilitarse si el receptor de interferón de tipo 1 está unido a una proteína transportadora, tal como seroalbúmina bovina o hemocianina de lapa de california (KLH). Los inmunógenos se inyectan dentro del huésped animal, preferiblemente de acuerdo con un programa predeterminado que incorpora una o más inmunizaciones de refuerzo, y los animales se sangran periódicamente. La inmunización se puede llevar a cabo con uno o más coadyuvantes tales como coadyuvante de Freund completo e incompleto. Se pueden purificar los anticuerpos policlonales específicos para el receptor de interferón de tipo 1 después a partir de tales antiseros mediante, por ejemplo, cromatografía de afinidad usando regiones inmunógenas de receptor de interferón de tipo 1 acopladas a un soporte sólido adecuado.

Se pueden preparar los anticuerpos monoclonales específicos para un interferón de tipo 1, por ejemplo, usando la técnica de Kohler y Milstein, *Nature* 256 (5517): 495-7 (1975), y mejoras a ésta. Brevemente, estos procedimientos implican la preparación de líneas celulares inmortales capaces de producir anticuerpos que tengan la especificidad deseada (es decir, reactividad con el gangliósido de interés). Tales líneas celulares se pueden producir, por ejemplo, a partir de células del bazo obtenidas a partir de un animal inmunizado como se describe anteriormente. Las células del bazo se immortalizan después mediante, por ejemplo, fusión con un compañero de fusión de células de mieloma, preferiblemente uno que es singénico con el animal inmunizado. Se puede emplear una diversidad de técnicas de fusión. Por ejemplo, las células del bazo y las células de mieloma se pueden combinar con un detergente no iónico durante unos pocos minutos y después se plaquearon a baja densidad en un medio selectivo que da soporte al crecimiento de las células híbridas, pero no a las células de mieloma. Una técnica de selección preferida usa selección de HAT (hipoxantina, aminopterina, timidina). Después de un tiempo suficiente, usualmente aproximadamente 1 ó 2 semanas, se observaron las colonias de híbridos. Las colonias individuales se seleccionaron y sus sobrenadantes de cultivo se probaron para actividad de unión contra un interferón de tipo 1 receptor. Se prefieren los híbridos que tienen alta reactividad y especificidad.

Los anticuerpos monoclonales se pueden aislar a partir de los sobrenadantes de colonias de hibridoma en crecimiento. Además, diversas técnicas se pueden emplear para potenciar el rendimiento, tales como inyección de la línea celular de hibridoma dentro de la cavidad peritoneal de un huésped vertebrado adecuado, tal como un ratón. Los anticuerpos monoclonales se pueden recoger del fluido de ascitis o de la sangre. Se pueden retirar los contaminantes de los anticuerpos mediante técnicas convencionales, tales como cromatografía, filtración de gel, precipitación, y extracción. Se puede usar anti-receptor de interferón de tipo 1 en los procedimientos de purificación en, por ejemplo, una etapa de cromatografía de afinidad.

Se conocen en la técnica un número de moléculas terapéuticamente útiles que comprenden sitios de unión a antígenos que son capaces de presentar propiedades de unión inmunológica de una molécula de anticuerpo. La enzima proteolítica papaína escinde preferencialmente las moléculas IgG para proporcionar varios fragmentos, dos de los cuales (los fragmentos "F_{ab}") comprenden cada uno un heterodímero covalente que incluye un sitio de unión a antígeno intacto. La enzima pepsina es capaz de escindir moléculas IgG para proporcionar varios fragmentos, incluyendo el fragmento "F_{ab'2}" que comprende ambos sitios de unión a antígeno. Un fragmento "F_v" se puede producir mediante escisión proteolítica preferencial de una molécula de inmunoglobulina de IgM, y en raras ocasiones de una molécula de inmunoglobulina IgG o de una molécula de inmunoglobulina IgA. Los fragmentos F_v, F_{ab} y F_{ab'2}, sin embargo, se derivan más comúnmente usando técnicas recombinantes conocidas en la técnica. El fragmento F_v incluye un heterodímero V_H:V_L no covalente que incluye un sitio de unión a antígeno que retiene muchas de las capacidades de reconocimiento de antígeno y de las capacidades de unión de la molécula de anticuerpo nativa. Inbar y col. Proc. Nat. Acad. Sci. EE.UU. 69: 2659-2662 (1972); Hochman y col. Biochem 15: 2706-2710 (1976); y Ehrlich y col. Biochem 19: 4091-4096 (1980).

Un anticuerpo de cadena individual F_v ("sF_v") es un heterodímero V_H:V_L covalentemente unido que se expresa a partir de una fusión de genes incluyendo genes que codifican V_H y V_L unidos mediante un engarce que codifica péptido. Huston y col., Proc. Nat. Acad. Sci. EE.UU. 85 (16): 5879-5883 (1988). Se ha descrito un número de procedimientos para distinguir estructuras químicas para convertir las cadenas de anticuerpo anti-anti-receptor tipo 1 ligeras y pesadas naturalmente agregadas pero químicamente separadas de una región V de anticuerpo en una molécula sF_v que se plegará en una estructura tridimensional sustancialmente similar a la estructura de un sitio de unión a antígeno. Véanse, por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos N^{os}.: 5.091.513 y 5.132.405, cedidas a Huston y col.; y la Patente de los Estados Unidos Número 4.946.778, cedida a Ladner y col.

Cada una de las moléculas anteriormente descritas incluye un grupo de CDR de una cadena pesada y un grupo de CDR de una cadena ligera, interpuestas respectivamente entre un grupo de FR de cadena pesada y un grupo de FR de cadena ligera que proporcionan soporte a las CDR y definen la relación espacial de las CDR en relación unas a otras. Como se usa en el presente documento, el término "grupo de CDR" hace referencia a las tres regiones hipervariables de una región V de cadena pesada o de cadena ligera. Continuando a partir del extremo N-terminal de una cadena pesada o de una cadena ligera, estas regiones se denotan como "CDR1," "CDR2", y "CDR3" respectivamente. Un sitio de unión a antígenos, por lo tanto, incluye seis CDR, comprendiendo el grupo de CDR de cada una de las regiones V de cadena pesada y de cadena ligera. Un antagonista de interferón de tipo 1 que comprende un CDR individual, (por ejemplo, un CDR1, CDR2 o CDR3) se refiere en el presente documento como una "unidad de reconocimiento molecular". El análisis cristalográfico de un número de complejos antígeno-anticuerpo ha demostrado que los residuos de aminoácidos de CDR forman contacto extenso con el antígeno unido, en el que el contacto con antígeno más extenso es con la cadena pesada CDR3. Así, las unidades de reconocimiento moleculares son principalmente responsables de la especificidad de un sitio de unión a antígeno.

Como se usa en el presente documento, el término "grupo FR" hace referencia a secuencias de aminoácidos flanqueantes que enmarcan las CDR de un grupo de CDR de una región V de cadena pesada o ligera. Algunos residuos de FR pueden contactar con antígeno unido; sin embargo, las FR son principalmente responsables de plegar la región V dentro del sitio de unión a antígeno, particularmente los residuos de FR adyacentes directamente a las CDR. Dentro de las FR, ciertos residuos de aminoácidos amino y ciertas características estructurales están muy altamente conservadas. A este respecto, todas las secuencias de región V contienen un bucle disulfuro interno de alrededor de 90 residuos de aminoácidos. Cuando las regiones V se pliegan dentro de un sitio de unión, las CDR se muestran como restos de bucle de proyección que forman una superficie de unión a antígeno. Se reconoce generalmente que hay regiones estructurales conservadas de FR que influyen la forma plegada de los bucles de CDR dentro de ciertas estructuras "canónicas" -a pesar de la secuencia de aminoácidos de CDR precisa-. Adicionalmente, ciertos residuos de FR se conocen por participar en contactos interdominio no covalentes que estabilizan la interacción de las cadenas ligeras y pesadas del anticuerpo.

Se ha descrito un número de moléculas de anticuerpo "humanizadas" que comprenden un sitio de unión a antígeno derivado de una inmunoglobulina no humana, incluyendo anticuerpos que tienen sus regiones V no humanas asociadas condensadas con dominios constantes humanos (Winter y Milstein Nature 349: 293-299 (1991); Lobuglio y col. Proc. Nat. Acad. Sci. EE.UU. 86: 4220-4224 (1989); Shaw y col. J Immunol. 138: 4534-4538 (1987); y Brown y col. Cancer Res. 47:3577-3583 (1987)), CDR no humanos injertados dentro de una FR que da soporte humana antes de fusión con un dominio constante de anticuerpo humano apropiado (Riechmann y col. Nature 332:323-327 (1988); Verhoeven y col. Science 239:1534-1536 (1988); y Jones y col. Nature 321:522-525 (1986)), y CDR de roedores soportados por FR de roedores recombinantemente protegidos (Publicación de Patente Europea N^o.: 519.596, publicada en el 23 de diciembre de 1992). Estas moléculas "humanizadas" se diseñan para minimizar la respuesta inmunológica no

deseada hacia moléculas de anticuerpo antihumanas no humanas que limitan la duración y efectividad de aplicaciones terapéuticas de aquellos restos en receptores humanos.

Como se usan en el presente documento, los términos “FR protegidas” y “FR recombinantemente protegidas” se refieren al reemplazo selectivo de residuos de FR de, por ejemplo, una región V de cadena pesada o ligera, con residuos de FR humanos con el fin de proporcionar una molécula xenogénica que comprenda un sitio de unión a antígenos que retenga sustancialmente toda la estructura de plegamiento de FR nativa. Las técnicas de protección se basan en la comprensión de que las características de unión a ligando de un sitio de antígeno de unión a ligando se determinan principalmente mediante la estructura y la disposición relativas de los grupos de CDR de cadenas pesadas y ligeras dentro de la superficie de unión a antígeno. Davies y col. Ann. Rev. Biochem. 59: 439-473 (1990). Así, la especificidad de unión a antígeno se puede preservar en un anticuerpo humanizado sólo en el que las estructuras CDR, su interacción unas con otras, y su interacción con el resto de los dominios de la región V se mantiene cuidadosamente. Usando técnicas de protección, los residuos de FR exteriores (por ejemplo, accesibles a disolvente) que se encuentran fácilmente por el sistema inmune se reemplazan selectivamente con residuos humanos para proporcionar una molécula híbrida que comprende bien una superficie protegida débilmente inmunogénica, o bien una superficie protegida sustancialmente no inmunogénica.

El procedimiento de protección hace uso de los datos de secuencia disponibles para dominios variables de anticuerpos humanos compilados por Kabat y col., en Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4ª ed., (U.S. Dept. of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office, 1987), actualizaciones para la base de datos de Kabat, y otras bases de datos accesibles de los Estados Unidos y extranjeras (tanto de ácidos nucleicos como de proteínas). Las accesibilidades de disolventes de los aminoácidos de la región V se pueden deducir a partir de la estructura tridimensional conocida para fragmentos de anticuerpos humanos y murinos. Hay dos etapas generales en proteger un sitio de unión a antígeno murino. Inicialmente, las FR de los dominios variables de una molécula de anticuerpo de interés se comparan con las secuencias de FR correspondientes de dominios variables humanos obtenidos a partir de las fuentes identificadas anteriormente. Las regiones V humanas más homólogas se comparan residuo por residuo con los aminoácidos murinos correspondientes. Los residuos en el FR murino que difieren de la contrapartida humana se reemplazan por los residuos presentes en el resto humano usando las técnicas recombinantes bien conocidas en la técnica. El cambio de residuos sólo se lleva a cabo con restos que están al menos parcialmente expuestos (accesibles a disolvente), y se ejerce cuidado en el reemplazo de residuos de aminoácidos que pueden tener un efecto significativo de la estructura terciaria de dominios de la región V, tales como prolina, glicina y aminoácidos cargados.

De esta manera, los sitios de unión a antígeno murinos “protegidos” resultantes se diseñan así para retener los residuos de CDR murinos, los residuos sustancialmente adyacentes a los CDR, los residuos identificados como ocultos o mayoritariamente ocultos (inaccesibles a disolvente), los residuos que se cree que participan en contactos no covalentes (por ejemplo, electrostáticos e hidrófobos) entre dominios de cadena pesada y dominios de cadena ligera, y los residuos de regiones conservadas estructurales de las FR que se cree que influyen las estructuras terciarias “canónicas” de los bucles de CDR. Estos criterios de diseño se usan después para preparar secuencias de nucleótidos recombinantes que combinan las CDR tanto de la cadena pesada como de la cadena ligera de un sitio de unión a antígeno murino dentro de los FR de apariencia humana que se pueden usar para transfectar células de mamíferos para la expresión de anticuerpos humanos recombinantes que presentan la especificidad de antígeno de la molécula de anticuerpo murina.

La presente invención contempla también que puede ser deseable reducir la inmunogenicidad *in vivo* o cualquiera de los anticuerpos preparados como se destaca anteriormente o mediante procedimientos disponibles de otro modo en la técnica. Una aproximación ejemplar para lograr anticuerpos que tengan inmunogenicidad reducida es la metodología de DeImmunisation™ proporcionada por Biovation (Aberdeen, Reino Unido). Mediante esta metodología, los epitopes de células T ayudantes humanas que comprenden secuencias de unión a MHC de clase II se identifican y se retiran de anticuerpos terapéuticos con el fin de minimizar activación y diferenciación de células T ayudantes cuando el anticuerpo se administra *in vivo*.

Un anticuerpo preferido de la invención es un anticuerpo humanizado referido en el presente documento como CPI-1697. Este anticuerpo se compone de una cadena pesada referida como H3 y una cadena ligera referida como K1. Las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de la cadena pesada H3 y de la cadena ligera K1 se muestran en las figuras 14A (SEQ ID N°:1) y 14B (SEQ ID N°:2). La cadena pesada H3 contiene las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada del anticuerpo 64G12 murino anti-IFNAR-1, injertadas en una secuencia armazón de cadena pesada de inmunoglobulina humana consenso, mientras que la cadena ligera K1 contiene las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera del anticuerpo 64G12 murino anti-IFNAR-1, injertadas en una secuencia armazón de cadena ligera kappa de inmunoglobulina humana consenso. El anticuerpo CPI-1697 incluye adicionalmente una región constante de IgG4 humana.

Otros antagonistas de IFNAR-1 basados en anticuerpos adecuados para usar en la invención se describen en detalle en la solicitud de Patente de los Estados Unidos con más de un cesionario titulada “Humanized Antibodies to Interferon Alpha Receptor-1 (IFNAR-1)”, Número de Serie 60/465.058, presentada el 23 de abril de 2003, que comprende una o más moléculas pequeñas tales como, por ejemplo, aquellas moléculas pequeñas que interfieren con unión de un interferón de tipo 1 con su receptor (es decir IFNAR).

En ciertas realizaciones, las bibliotecas de combinación de antagonistas de moléculas pequeñas potenciales se pueden examinar en su capacidad para unirse a un interferón de tipo 1 o al receptor de interferón de tipo 1. Conven-

cionalmente, las entidades químicas nuevas con propiedades útiles se generan identificando un compuesto químico (llamado un "compuesto principal") con alguna propiedad o actividad deseable, por ejemplo, actividad inhibidora, creando variantes del compuesto principal, y evaluando la propiedad y actividad de aquellos compuestos variantes. A menudo, los procedimientos de examen de alto rendimiento (HTS) se emplean para un análisis tal.

En una realización preferida, los procedimientos de examen de alto rendimiento implican proporcionar una biblioteca que contiene un gran número de compuestos terapéuticos potenciales (compuestos candidatos). Tales "librerías químicas de combinación" se examinan después en uno o más ensayos para identificar aquellos miembros de biblioteca (especies o subclases químicas particulares) que presentan una actividad característica deseada. Los compuestos así identificados pueden servir como "compuestos principales" convencionales o pueden usarse por sí mismos como productos terapéuticos de IBD potenciales o reales.

Una biblioteca química de combinación es una colección de diversos compuestos químicos generados bien mediante síntesis química o bien mediante síntesis biológica combinando un número de "bloques de construcción" químicos tales como reactivos. Por ejemplo, una biblioteca química de combinación lineal, tal como una biblioteca de polipéptidos (por ejemplo, muteínas), se forma combinando un grupo de bloques de construcción química llamados aminoácidos en cada forma posible para una longitud de compuesto dada (es decir, el número de aminoácidos en un compuesto polipeptídico). Se pueden sintetizar millones de compuestos químicos por mezcla de combinación tal de bloques de construcción químicos. Gallop y col., *J. Med. Chem.* 37(9):1233-1251 (1994).

Se conocen bien la preparación y el examen de bibliotecas químicas de combinación por aquellos de habilidad en la técnica. Tales bibliotecas químicas de combinación incluyen, pero no se limitan a, bibliotecas de péptidos (véanse, por ejemplo, Patente de los EE.UU. N°.: 5.010.175, Furka, *Pept. Prot. Res.* 37:487-493 (1991), Houghton y col., *Nature*, 354:84-88 (1991)), peptoides (Publicación PCT N°.: WO 91/19735), péptidos codificados (Publicación PCT N°.: WO 93/20242), bio-oligómeros aleatorios (Publicación PCT WO 92/00091), benzodiazepinas (Patente de los Estados Unidos N°.: 5.288.514), diversómeros tales como hidantoinas, benzodiazepinas y dipéptidos (Hobbs y col., *Proc. Nat. Acad. Sci. EE.UU.* 90:6909-6913 (1993)), polipéptidos vinílicos (Hagihara y col., *J. Amer. Chem. Soc.* 114:6568 (1992)), peptidomiméticos no peptídicos con un andamiaje de Beta-D-Glucosa (Hirschmann y col., *J. Amer. Chem. Soc.* 114: 9217-9218 (1992)), síntesis orgánica análoga de bibliotecas de compuestos pequeños (Chen y col., *J. Amer. Chem. Soc.* 116: 2661 (1994)), oligocarbamatos (Cho, y col., *Science* 261:1303 (1993)), y/o fosfonatos de peptidilo (Campbell y col., *J. Org. Chem.* 59:658 (1994)). Véanse, generalmente, Gordon y col., *J. Med. Chem.* 37:1385 (1994), bibliotecas de ácidos nucleicos (véase, por ejemplo, Strategene, Corp.), bibliotecas de ácidos nucleicos de péptidos (véase, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos 5.539.083), bibliotecas de anticuerpos (véanse, por ejemplo, Vaughn y col., *Nature Biotechnology* 14 (3): 309-314 (1996), y PCT/US96/10287), bibliotecas de carbohidratos (véanse, por ejemplo, Liang y col., *Science* 274: 1520-1522 (1996), y Patente de los Estados Unidos N°.: 5.593.853), y bibliotecas de moléculas orgánicas pequeñas (véanse, por ejemplo, benzodiazepinas, Baum, *C&EN*, 18 de enero, página 33 (1993); isoprenoides, Número de Patente de los Estados Unidos. 5.569.588; tiazolidinonas y metatiazanonas, Número de Patente de los Estados Unidos 5.549.974; pirrolidinas, Patentes de los Estados Unidos N°s.: 5.525.735 y 5.519.134; compuestos de morfolino, Número de Patente de los Estados Unidos 5.506.337; benzodiazepinas, Número de Patente de los Estados Unidos 5.288.514; y similares).

Los dispositivos para la preparación de bibliotecas combinatorias están disponibles comercialmente (véanse, por ejemplo, 357 MPS, 390 MPS, Advanced Chem Tech, Louisville KY, Symphony, Rainin, Woburn, MA, 433A Applied Biosystems, Foster City, CA, 9050 Plus, Millipore, Bedford, MA).

Se ha desarrollado también un número de sistemas robóticos bien conocidos para procedimientos químicos en fase de solución. Estos sistemas incluyen terminales de trabajo automatizadas como los aparatos de síntesis automatizada desarrollados por Takeda Chemical Industries, LTD. (Osaka, Japón) y muchos sistemas robóticos que utilizan brazos robóticos (Zymate II, Zymark Corporation, Hopkinton, Mass.; Orca, Hewlett-Packard, Palo Alto, Calif.), que imitan las operaciones de síntesis manuales llevadas a cabo mediante un producto químico. Los dispositivos anteriores, con modificación apropiada, son adecuados para usar con la presente invención. Además, numerosas bibliotecas de combinación están comercialmente disponibles por sí mismas (véanse, por ejemplo, ComGenex, Princeton, N.J., Asinex, Moscú, Ru, Tripos, Inc., San Luís, MO, ChemStar, Ltd, Moscú, RU, 3D Pharmaceuticals, Exton, PA, Martek Biosciences, Columbia, MD, etc.).

Para detección de interacciones interferón-receptor, se pueden usar ensayos que detecten la transducción de señales mediada por IFN tal como la inhibición mediada por IFN de proliferación celular en líneas celulares tumorales humanas cultivadas. Adicionalmente, los ensayos de genes indicados se pueden usar, por ejemplo, usando genes indicadores expresados a partir de un promotor de genes sensible a IFN. Lallemant y col., *J. Leukocyte Biol.* 60:137-146 (1996). Los genes indicadores adecuados incluyen genes que codifican luciferasa y proteína fluorescente verde. En un ensayo tal, la expresión del gen indicador es dependiente de la actividad de IFN y el antagonista de IFN inhibe selectivamente la expresión de genes estimulados con IFN.

Los ensayos de alto rendimiento para evaluar la presencia, ausencia, cuantificación, u otras propiedades de polipéptidos particulares se conocen bien por aquellos de habilidad en la técnica. De forma similar, los ensayos de unión y los ensayos de genes indicadores se conocen similarmente bien. Así, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos Número 5.559.410 describe procedimientos de examen de alto rendimiento para proteínas, la Patente de los EE.UU. Número 5.585.639 describe procedimientos de examen de alto rendimiento para unión de ácidos nucleicos (es decir, en

disposiciones), mientras que las Patentes de los Estados Unidos N^{os} : 5.576.220 y 5.541.061 describen procedimientos de alto rendimiento de examen para unión ligando/anticuerpo.

Además, los sistemas de examen de alto rendimiento están disponibles comercialmente (véanse, por ejemplo, Zymark Corp., Hopkinton, MA; Air Technical Industries, Mentor, OH; Beckman Instruments, Inc. Fullerton, CA; Precision Systems, Inc., Natick, MA, etc.). Estos sistemas típicamente procedimientos automáticos, incluyen pipeteo de muestra y de reactivo, dispensación de líquidos, incubaciones cronometradas, y lecturas finales de la microplaca en detector(es) apropiado(s) para el ensayo. Estos sistemas configurables proporcionan alto rendimiento y comienzo rápido así como un alto grado de flexibilidad y personalización. Los fabricantes de tales sistemas proporcionan protocolos detallados para diversos sistemas de alto rendimiento. Así, por ejemplo, Zymark Corp. proporciona boletines técnicos que describen sistemas de rastreo para detectar la modulación de transcripción de genes, unión a ligando, y similares.

En una realización, los moduladores son proteínas, a menudo proteínas que se dan en la naturaleza o fragmentos de proteínas que se dan en la naturaleza. Así, por ejemplo, extractos celulares que contienen proteínas, o digestiones aleatorias o dirigidas de extractos celulares proteináceos.

Composiciones que comprenden anticuerpos anti-receptor de Interferón de Tipo 1

En realizaciones adicionales, la presente invención se refiere a formulación de uno o más de los anticuerpos anti-receptor de interferón de tipo 1 descritos en el presente documento en vehículos farmacéuticamente aceptables para administración a una célula o a un animal, bien solos o bien en combinación con una o más modalidades diferentes de terapia. Por ejemplo, dependiendo del régimen terapéutico particular contemplado, las composiciones de la presente invención pueden comprender adicionalmente uno o más productos terapéuticos adicionales tales como, por ejemplo, un inmunosupresor, un anti-inflamatorio, un esteroide, un agente inmunomodulador, una citoquina, y un antagonista de TNF. Los inmunosupresores ejemplares incluyen azatioprina, metotrexato, ciclosporina, FK506, rapamicina, y mifofenolato de mofetilo. Los antiinflamatorios ejemplares incluyen ácido 5-aminosalicílico, sulfasalazina y olsalazina. Los esteroides ejemplares incluyen corticosteroides, glucocorticosteroides, prednisona, prednisolona, hidrocortisona, metilprednisolona, dexametasona y ACTH. Los agentes inmunomoduladores ejemplares incluyen PVAC, ligando anti-CD40, anti-CD40, natalizumab (AntegrenTM), anti-VCAM1 y anti-ICAM1. Las citoquinas ejemplares incluyen IL-10. Los antagonistas de TNF ejemplares incluyen infliximab (Remicade[®]), etanercept (Enbrel[®]), adalimumab (Humira[®]), y CDP870.

Se comprenderá que, si se desea, una composición como se describe en el presente documento se puede administrar en combinación con otros agentes también, tales como, por ejemplo, otras proteínas o polipéptidos o diversos agentes farmacéuticamente activos. De hecho, no hay virtualmente ningún límite a otros componentes que se puedan incluir también, dado que los agentes adicionales no causan un efecto adverso significativo tras entrar en contacto con las células objetivo o lo tejidos huésped. Las composiciones pueden así administrarse junto con diversos otros agentes como se requiere en el caso particular. Tales composiciones se pueden purificar a partir de células huésped u otras fuentes biológicas, o alternativamente pueden sintetizarse químicamente como se describe en el presente documento.

Por lo tanto, en otro aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los anticuerpos descritos en el presente documento en combinación con un vehículo fisiológicamente aceptable.

Será patente que cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento puede contener sales farmacéuticamente aceptables de los polipéptidos de la invención. Tales sales se pueden preparar, por ejemplo, a partir de bases no tóxicas farmacéuticamente aceptables, incluyendo bases orgánicas (por ejemplo, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias y aminoácidos básicos) y bases inorgánicas (por ejemplo, sales de sodio, de potasio, de litio, de amonio, de calcio y de magnesio).

Mientras que cualquier vehículo adecuado conocido por aquellos de habilidad normal en la técnica se puede emplear en las composiciones de esta invención, el tipo de vehículo variará típicamente dependiendo del modo de administración. Las composiciones de la presente invención se pueden formular por cualquier manera apropiada de administración, incluyendo por ejemplo, administración oral, nasal, mucosal, intravenosa, intraperitoneal, e intramuscular.

Los vehículos para usar en tales composiciones farmacéuticas son biocompatibles, y pueden ser también biodegradables. En ciertas realizaciones, la formulación proporciona preferiblemente un nivel relativamente constante de liberación de componentes activos. En otras realizaciones, sin embargo, puede desearse una velocidad de liberación más rápida inmediatamente después de la administración. La formulación de tales composiciones está bien dentro del nivel de habilidad normal en la técnica usando técnicas conocidas. Los vehículos ilustrativos útiles a este respecto incluyen micropartículas de poli(lacturo o glicólido), poliacrilato, látex, almidón, celulosa, dextrano y similares. Otros vehículos de liberación retardada ilustrativos incluyen biovectores supramoleculares, que comprenden un núcleo hidrófilo no líquido (por ejemplo, un polisacárido u oligosacárido entrecruzado) y, opcionalmente, una capa externa que comprende un compuesto anfifílico, tal como un fosfolípido (véanse por ejemplo, Patente de los Estados Unidos Número 5.151.254 y Publicaciones PCT Números: WO 94/20078, WO/94/23701 y WO 96/06638). La cantidad de

compuesto activo contenida dentro de una formulación de liberación sostenida depende del sitio de implantación, la velocidad de liberación y la duración de liberación esperada y la naturaleza de la afección a tratarse o evitarse.

En otra realización ilustrativa, se emplean microsferas biodegradables (por ejemplo, poliglicolato de polilactato) como vehículos para las composiciones de esta invención. Las microsferas biodegradables adecuadas se describen, por ejemplo, en las Patentes de los Estados Unidos N^{os}.: 4.897.268; 5.075.109; 5.928.647; 5.811.128; 5.820.883; 5.853.763; 5.814.344, 5.407.609 y 5.942.252. Los sistemas de vehículos de proteínas de núcleo de la hepatitis B modificados tal como se describen en Publicación PCT Número: WO/99 40934, y las referencias citadas en lo mencionado, serán útiles también para muchas aplicaciones. Otro sistema vehículo/administración ilustrativo emplea un vehículo que comprende complejos de particulados-proteínas, tales como aquellos descritos en la Patente de los Estados Unidos Número 5.928.647, que son capaces de inducir respuestas de linfocitos T citotóxicos clase I-restringidos en un huésped.

Las composiciones farmacéuticas de la invención comprenderán a menudo uno o más tampones (por ejemplo, medio salino tamponado neutral o medio salino tamponado con fosfato), carbohidratos (por ejemplo, glucosa, manosa, sacarosa o dextranos), manitol, proteínas, polipéptidos o aminoácidos tales como glicina, antioxidantes, bacteriostáticos, agentes quelantes tales como EDTA o glutatión, coadyuvantes (por ejemplo, hidróxido de aluminio), solutos que vuelven a la formulación isotónica, hipotónica o débilmente hipertónica con la sangre de un recipiente, agentes de suspensión, agentes espesantes y/o conservantes. Alternativamente, las composiciones de la presente invención pueden formularse en forma de un liofilizado.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden presentar en recipientes de dosis única o en recipientes de multidosis, tales como ampollas o viales sellados. Tales recipientes se sellan típicamente en una forma tal para preservar la estabilidad y la estabilidad de la formulación hasta su uso. En general, las formulaciones se pueden almacenar como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos. Alternativamente, una composición farmacéutica se puede almacenar en condiciones de secado por congelación requiriendo sólo la adición de un vehículo de líquido estéril inmediatamente antes de usar.

El desarrollo de dosificación adecuada y los regímenes de tratamiento adecuados para usar las composiciones particulares descritas en el presente documento en una diversidad de regímenes de tratamiento, que incluyen por ejemplo, administración oral, intravenosa, intranasal, e intramuscular y formulación, se conocen bien en la técnica, algo de lo cual se discute brevemente más adelante para los propósitos generales de ilustración.

En ciertas aplicaciones, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden administrar por vía oral a un animal. Como tales, estas composiciones pueden formularse con un diluyente inerte o con un transportador comestible asimilable, o pueden estar encerradas en cápsula de vaina de gelatina de gelatina dura o blanda, o pueden estar prensadas en comprimidos, o pueden estar incorporadas directamente en la comida de la dieta.

Los compuestos activos pueden incluso incorporarse con excipientes y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, y similares (véanse, por ejemplo, Mathiowitz y col., Nature 27 de marzo de 1997; 386 (6623): 410-4; Hwang y col., Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 1998;15 (3): 243-84; Patente de los EE.UU. 5.641.515; Patente de los EE.UU. 5.580.579 y Patente de los EE.UU. 5.792.451). Los comprimidos, trociscos, píldoras, cápsulas y similares pueden contener también cualquiera de una diversidad de componentes adicionales, por ejemplo, un aglutinante, tal como goma de tragacanto, goma arábiga, almidón de maíz, o gelatina; excipientes, tales como fosfato dicálcico; un agente disgregante, tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico y similares; un lubricante, tal como estearato de magnesio; y se puede añadir un agente edulcorante, tal como sacarosa, lactosa o sacarina o un agente aromatizante, tal como menta, aceite de gaulteria, o aromatizante de cereza. Cuando la forma de dosificación unitaria es una cápsula, puede contener, además de materiales del tipo anterior, un vehículo líquido. Diversos otros materiales pueden estar presentes como recubrimientos o para modificar de otras maneras la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, comprimidos, píldoras, o cápsulas pueden estar recubiertas con goma shellac, azúcar, o ambos. Por supuesto, cualquier material usado en preparar cualquier forma de unidad de dosificación sería farmacéuticamente puro y sustancialmente no tóxico en las cantidades empleadas. Además, los compuestos activos se pueden incorporar en la preparación de la liberación sostenida y en las formulaciones de liberación sostenida.

Típicamente, estas formulaciones contendrán al menos aproximadamente 0,1% del compuesto activo o más, aunque el porcentaje del/de los ingrediente(s) activo(s) puede, por supuesto, variarse y puede estar convenientemente entre aproximadamente 1 ó 2% y aproximadamente 60% o 70% o más del peso o volumen de la formulación total. Naturalmente, la cantidad del/de los compuesto(s) activo(s) en cada composición terapéuticamente útil se puede preparar en una forma tal que se obtendrá una dosificación adecuada en cualquier dosis unitaria dada del compuesto. Factores tales como solubilidad, biodisponibilidad, semivida biológica, vía de administración, vida propia del producto, así como otras consideraciones farmacológicas se contemplarán por alguien experto en la técnica de preparar tales formulaciones farmacéuticas, y como tal, puede ser deseable una diversidad de dosificaciones y regímenes de tratamiento.

Para administración oral las composiciones de la presente invención pueden incorporarse alternativamente con uno o más excipientes en forma de un enjuague bucal, dentífrico, comprimido bucal, pulverización oral, o formulación sublingual administrados oralmente. Alternativamente, el ingrediente activo se puede incorporar dentro de una solución

oral tal como una que contiene borato de sodio, glicerina y bicarbonato de potasio, o dispersado en un dentífrico, o añadido en una cantidad terapéuticamente efectiva a una composición que puede incluir agua, aglutinantes, abrasivos, agentes aromatizantes, agentes espumantes, y humectantes. Alternativamente las composiciones pueden crearse dentro de una forma de comprimido o de solución que pueda situarse bajo la lengua o de lo contrario disolverse en la boca.

En ciertas circunstancias será deseable administrar las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento intravenosamente o intramuscularmente. Tales aproximaciones se conocen bien por el trabajador experto, algunas de las cuales se describen adicionalmente, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos 5.543.158; la Patente de los Estados Unidos 5.641.515 y la Patente de los Estados Unidos 5.399.363. En ciertas realizaciones, las soluciones de los compuestos activos como base libre de sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar en agua mezcladas adecuadamente con un tensioactivo, tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones se pueden preparar también en glicerol, polietilenglicoles líquidos, y mezclas de los mismos y en aceites. Bajo condiciones ordinarias de almacenamiento y uso, estas preparaciones contendrán generalmente un conservante para evitar el crecimiento de microorganismos.

Las formas farmacéuticas ilustrativas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles (por ejemplo, véase Patente de los Estados Unidos 5.466.468). En todos los casos la forma debe ser estéril y debe ser fluida en el grado en que exista inyectabilidad fácil. Debe ser estable bajo las condiciones de elaboración y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. El transportador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenoglicol, y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos, y/o aceites vegetales. Se puede mantener fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como una lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerida en el caso de dispersión y/o mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos se puede facilitar por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede llevar a cabo mediante el uso en las composiciones de agentes que retardan absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

En una realización, la solución sería adecuadamente tamponada si es necesario y el primer diluyente líquido se volvería isotónico con medio salino o glucosa suficiente. Estas soluciones acuosas particulares son especialmente adecuadas para administración intravenosa e intramuscular. En esta conexión, un medio acuoso estéril que se puede emplear se conocerá por aquellos de habilidad en la técnica a la luz de la presente descripción. Por ejemplo, una dosificación se puede disolver en 1 ml de solución de NaCl isotónica y bien añadirse a 1000 ml de fluido de hipodermoclisis o bien inyectarse en el sitio de infusión propuesto, (véase por ejemplo, "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15ª edición, páginas 1035-1038 y 1570-1580). Alguna variación en dosificación ocurrirá necesariamente dependiendo de la afección del sujeto que se esté tratando. Además, para administración humana, las preparaciones por supuesto preferiblemente cumplirán con esterilidad, pirogenicidad, y los estándares de seguridad y pureza generales como se requiere por la Oficina de Estándares Biológicos de la FDA.

En otra realización de la invención, las composiciones descritas en el presente documento se pueden formular en una forma neutral o salina. Las sales farmacéuticamente aceptables ilustrativas incluyen las sales de adición ácida (formadas con los grupos amino libres de la proteína) y las que se formaran con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o con ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico, mandélico, y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres pueden derivarse también de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxidos sódico, potásico, amónico, cálcico, o férrico, y bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina, procaína y similares. Tras la formulación, las soluciones se administrarán en una manera compatible con la formulación de dosificación y en cantidad tal como sea terapéuticamente efectiva.

Los vehículos pueden comprender adicionalmente cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, vehículos, recubrimientos, diluyentes, agentes antibacterianos y agentes antifúngicos, agentes isotónicos y agentes retardadores de la absorción, tampones, soluciones de transporte, suspensiones, coloides, y similares. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce bien en la técnica. Excepto en la medida en que cualesquiera medios o agentes convencionales sean incompatibles con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. Los ingredientes activos suplementarios se pueden incorporar dentro de las composiciones. La frase "farmacéuticamente aceptable" hace referencia a entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción perjudicial alérgica o similar cuando se administran a un ser humano.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se pueden administrar mediante pulverizadores intranasales, inhalación, y/o otros vehículos de administración de aerosoles. Se han descrito procedimientos para administrar genes, ácidos nucleicos, y composiciones peptídicas directamente a los pulmones por medio de pulverizadores de aerosol, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos 5.756.353 y en la Patente de los Estados Unidos 5.804.212. Por lo tanto, la administración de fármacos usando resinas de micropartículas intranasales (Takenaga y col., J Controlled Release 2 de marzo de 1998; 52 (1-2): 81-7) y los compuestos de lisofosfatidil-glicerol (Patente de los Estados Unidos 5.725.871) se conocen bien también en las técnicas farmacéuticas. Por lo tanto, la administración de fármaco transmucosal ilustrativa en la forma de una matriz de soporte de politetrafluoroetileno se describe en la Patente de los Estados Unidos 5.780.045.

En ciertas realizaciones, se usan liposomas, nanocápsulas, micropartículas, partículas lipídicas, vesículas, y similares, para la introducción de las composiciones de la presente invención dentro de las células huésped/organismos adecuados. En particular, las composiciones de la presente invención pueden formularse para administración encapsuladas bien en una partícula lipídica, bien en un liposoma, bien en una vesícula, bien en una nanosfera, o bien en una nanopartícula o similar. Alternativamente, composiciones de la presente invención se pueden unir, bien covalentemente o bien no covalentemente, a la superficie de tales vehículos transportadores.

La formación y el uso de preparaciones de liposomas y de preparaciones similares a liposomas como vehículos de fármacos potenciales se conoce generalmente por aquellos de habilidad en la técnica (véanse por ejemplo, Lasic, Trends Biotechnol julio de 1998; 16 (7): 307-21; Takakura, Nippon Rinsho marzo de 1998; 56 (3): 691-5; Chandran y col., Indian J Exp Biol. agosto de 1997; 35 (8): 801-9; Margalit, Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 1995; 12 (2-3): 233-61; Patente de los Estados Unidos 5.567.434; Patente de los Estados Unidos 5.552.157; Patente de los Estados Unidos 5.565.213; Patente de los Estados Unidos 5.738.868 y Patente de los Estados Unidos 5.795.587).

En ciertas realizaciones, se forman los liposomas a partir de fosfolípidos que se dispersan en un medio acuoso y que forman espontáneamente vesículas bicapa concéntricas multilamelares (también denominadas vesículas multilamelares (MLVs)).

Alternativamente, en otras realizaciones, la invención proporciona formulaciones de nanocápsulas farmacéuticamente aceptables de las composiciones de la presente invención. Las nanocápsulas pueden generalmente atrapar compuestos en una manera estable y reproducible (véase, por ejemplo, Quintanar-Guerrero y col., Drug Dev Ind Pharm. diciembre de 1998; 24 (12): 1113-28). Para evitar efectos secundarios debidos a sobrecarga polimérica intracelular, se pueden diseñar tales partículas ultrafinas (evaluadas alrededor de 0,1 μm) se pueden diseñar usando polímeros capaces de degradarse *in vivo*. Tales partículas se pueden elaborar como se describe, por ejemplo, por Couvreur y col., Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 1988; 5(1): 1-20; zur Muhlen y col., Eur J Pharm Biopharm. marzo de 1998; 45 (2): 149-55; Zambaux y col. J Controlled Release. 2 de enero de 1998; 50 (1-3): 31-40; y Patente de los Estados Unidos N°.: 5.145.684.

Usos de anticuerpos Anti-Receptor de Interferón de Tipo I para el Tratamiento de las Enfermedades del Intestino Inflamatorias

Como se indica en el presente documento anteriormente, la presente invención también proporciona usos terapéuticos de anticuerpos anti-receptor de interferón de tipo I para el tratamiento de Enfermedad Inflamatoria Intestinal tal como, por ejemplo, Enfermedad Celíaca, Enfermedad de Crohn, y colitis ulcerativa. La presente invención también proporciona, en realizaciones adicionales, usos que comprenden las etapas de (a) administrar a un paciente afectado con IBD, una cantidad tolerizadora de un anticuerpo anti-interferón de receptor de tipo 1 y (b) administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un antagonista de interferón de tipo 1. Además, puede ser deseable administrar uno o más antagonistas de interferón de tipo 1 en combinación con otros compuestos terapéuticos tales como, por ejemplo, un inmunosupresor, un anti-inflamatorio, un esteroide, un agente inmunomodulador, una citoquina, y un antagonista de TNF tales como aquellos identificados anteriormente en el presente documento.

Las rutas y la frecuencia de administración de las composiciones terapéuticas descritas en el presente documento, así como la dosificación, variarán de individuo a individuo, y pueden establecerse fácilmente usando técnicas estándar. Mediante los procedimientos de la presente invención, el antagonista se puede administrar mediante cualquier vía adecuada de administración tal como para asegurar biodisponibilidad apropiada. Así, dentro de ciertas realizaciones, las vías de administración adecuadas pueden incluir bolo intravenoso, bolo intravenoso lento, o infusión. Mediante otras realizaciones, se puede llevar a cabo administración del antagonista de interferón tipo 1 por inyección subcutánea, intramuscular, transdérmica o intradérmica. Las realizaciones alternativas proporcionan que la administración puede lograrse por administración mucosal tal como, por ejemplo, por inhalación (por ejemplo, mediante aspiración), o por administración nasofaríngea u oral.

En ciertas realizaciones el anticuerpo y/o un fragmento de unión a antígeno del mismo, la vía de administración puede ser subcutánea, intramuscular y/o intravenosa. La administración intravenosa puede ser como una inyección de bolo, como una inyección de bolo lenta, o como una infusión. Las realizaciones alternativas proporcionan que los anticuerpos puedan administrarse transdérmicamente, intradérmicamente, y mucosalmente.

En general, una dosificación apropiada y un régimen de tratamiento apropiado proporcionan el/los compuesto(s) activo(s) en una cantidad suficiente para proporcionar beneficio terapéutico. Una respuesta tal se puede someter a seguimiento estableciendo un resultado clínico mejorado (por ejemplo, reducciones en dolor abdominal; diarrea sangrante; manifestaciones "extra-intestinales" tales como artritis, uveítis, y cambios en la piel, etc.; y en la acumulación de células inflamatorias dentro del intestino delgado y el colon).

Dependiendo de la naturaleza precisa del régimen de tratamiento, las dosificaciones apropiadas de los anticuerpos anti-receptor de interferón de tipo 1 descritos en el presente documento pueden estar entre 0,1 y 50 mg/kg de peso corporal, inclusive, más preferiblemente entre 0,5 y 10 mg/kg de peso corporal, inclusive, y hasta más preferiblemente entre 2 y 5 mg/kg de peso corporal, inclusive. En ciertas realizaciones, se pueden administrar dosis repetidas múltiples.

En realizaciones de la presente invención la frecuencia de dosificación puede estar en el intervalo de una vez al día a una vez al mes, inclusive, más preferiblemente, en el intervalo de dos veces por semana a cada dos semanas, inclusive, y aún más preferiblemente aproximadamente una vez por semana.

Realizaciones aún adicionales de la presente invención proporcionan usos los cuales usos comprenden las etapas de (a) administrar como un primer medicamento una dosis tolerizadora de un anticuerpo de receptor de interferón de tipo 1 y (b) administrar como un segundo medicamento una dosis terapéuticamente efectiva de un antagonista de interferón de tipo 1. En realizaciones preferidas de estos procedimientos, el antagonista de interferón y/o el anticuerpo pueden ser contra el receptor de interferón de tipo 1 (IFNAR). Anticuerpos anti-interferón de tipo 1 ejemplares incluyen anticuerpos quiméricos, primatizados, humanizados, desinmunizados y de humanos. Ciertos anticuerpos anti-IFNAR preferidos incluyen aquellos que se unen a IFNAR 1 tales como, por ejemplo, el anticuerpo monoclonal murino designado 64G12 y/o la variante humana manipulada designada CPI-1697.

Para lograr una dosis tolerizadora inicial, los anticuerpos anti-interferón de tipo 1 pueden ser inmunogénicos en seres humanos y en primates no humanos. La respuesta inmune puede ser biológicamente significativa y puede perjudicar la eficacia terapéutica del anticuerpo incluso si el anticuerpo está parcialmente o principalmente compuesto de secuencias de inmunoglobulinas humanas tales como, por ejemplo, en el caso de un anticuerpo quimérico, primatizado o humanizado. Dentro de ciertas realizaciones preferidas, se administra una dosis alta inicial de anticuerpo de tal forma que se establece un grado de tolerancia inmunológica al anticuerpo. La dosis tolerizadora es suficiente para impedir o reducir la inducción de una respuesta de anticuerpo IgG para administración repetida del anticuerpo anti-IFNAR.

Los intervalos preferidos para la dosis tolerizadora del primer anticuerpo anti-receptor de tipo 1 de interferón están entre 10 mg/kg de peso corporal a 50 mg/kg de peso corporal, inclusive. Intervalos más preferidos para la dosis tolerizadora están entre 20 y 40 mg/kg, inclusive. Intervalos aún más preferidos para la dosis tolerizadora están entre 20 y 25 mg/kg, inclusive.

En estos regímenes terapéuticos, la dosis terapéuticamente efectiva de anticuerpo anti-receptor de interferón de tipo 1 se administra preferiblemente en el intervalo de 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal, inclusive. Segundas dosis efectivas terapéuticamente más preferidas están en el intervalo de 0,2 a 5 mg/kg de peso corporal, inclusive. Dosis efectivas terapéuticamente aún más preferidas están en el intervalo de 0,5 a 2 mg/kg, inclusive. En realizaciones alternativas, la dosis o las dosis terapéuticas subsiguientes pueden estar en la misma formulación o en diferentes formulaciones como la dosis tolerizadora y/o se pueden administrar mediante la misma vía o mediante vías diferentes como la dosis tolerizadora. Preferiblemente las dosis terapéuticas se administran intravenosamente, intramuscularmente, o subcutáneamente.

El siguiente Ejemplo se ofrece a modo de ilustración y no a modo de limitación.

40 Ejemplo

Uso de antagonista de IFNAR-1 en el tratamiento de enfermedad inflamatoria intestinal

La colitis idiopática en el tití de cabeza blanca (CTT; *Sanguinus oedipus*), una especie de primate del nuevo mundo, se reconoce en la técnica como un modelo de Enfermedad Inflamatoria Intestinal (IBD) en seres humanos. Los animales afectados tienen una patofisiología similar a la colitis ulcerativa, con cambios histológicos similares observados para el colon, y una secuela común en seres humanos y CTT es el cáncer de colon. La colitis en CTT está asociada con morbilidad y mortalidad, tanto en la fase de colitis como debido al cáncer de colon. La colitis se caracteriza por brotes repetitivos de síntomas, con remisión. Los periodos de enfermedad generalmente duran aproximadamente 4 semanas, aunque hay variabilidad individual significativa. Los síntomas clínicos incluyen diarrea con sangre en heces, con un síndrome de maladigestión/malaabsorción. Histológicamente, la enfermedad se caracteriza por infiltración de neutrófilos dentro del epitelio mucoso del intestino grueso, con cambios degenerativos progresivos a la morfología de las criptas intestinales, que permite diagnosis de la fase de progresión de la enfermedad. Mientras que la causa no se conoce, los agentes de la dieta y los agentes infecciosos probablemente tienen un papel y casi con certeza conducen a la exacerbación de la afección.

Se ha desarrollado una forma humanizada manipulada del anticuerpo de ratón 64G12, CPI-1697, (IgG4k), que une IFNAR1 y compite con 64G12 uniéndose a un epítipo similar. El CPI-1697 se usó tratando colitis idiopática en CTT como sigue. Experimentalmente se seleccionan animales que no han tenido contacto con la enfermedad de una colonia, sobre la base de una historia de colitis y que presentan síntomas clínicos que incluyen diarrea y pérdida de peso al tiempo de la entrada en el estudio. Los animales sufrieron biopsia de colon, confirmando la inflamación del colon dentro de las dos semanas previas a la iniciación del experimento. Todos los animales del estudio tuvieron valores de colitis histológicos positivos de 2, en un intervalo de 0-4, (0 = tejido normal) para actividad, hiperplasia y cronicidad, de acuerdo con un esquema de cuantificación establecido. (Madara y col., Gastroenterology 88:13-19 (1985)). Los animales se preexaminaron para niveles de IFNAR-1 anteriores a la inclusión en el estudio mediante citometría de flujo, usando CPI-1697 conjugado con ficoeritrina en leucocitos de sangre periférica aislados. CPI-1697 se filtró de forma estéril y se preparó a 20 mg/ml en solución de vehículo (PBS Na de Dulbecco (estéril, USP)).

El experimento se llevó a cabo en dos fases secuenciales. En el primer experimento (Fase I), se trataron 5 animales con colitis con una dosis inicial de CPI-1697 a 20 mg/kg, dada por infusión intravenosa lenta, seguida por siete dosis de 10 mg/kg administradas intramuscularmente dos veces semanalmente durante 4 semanas. Se administraron a cinco animales de control volúmenes equivalentes de solución de vehículo (PBS Na de Dulbecco) de acuerdo con el mismo programa de dosificación. En el segundo experimento (Fase II), se trataron 6 animales con CPI-1697 bajo la misma dosis inicial intravenosamente (20 mg/kg) seguida por dosis dos veces semanalmente intramuscularmente (10 mg/kg) durante 8 semanas. Se administraron 5 animales de control con solución de vehículo de acuerdo con el mismo programa. En ambas Fases, los animales se sometieron a seguimiento para peso corporal (dos veces semanalmente), diarrea y periódicamente mediante valoración histológica de biopsia de colon.

En la Fase I, los animales se evaluaron tanto durante el tiempo de tratamiento como entonces se siguieron durante 6 semanas después del final del periodo de tratamiento, y durante 4 semanas después del final de tratamiento en Fase II. Todos los animales se sometieron a seguimiento también adicionalmente en pesos e histología de colon a 51 semanas y 27 semanas después del final de tratamiento para la Fase I y II, respectivamente. La diarrea se clasificó y se valoró visualmente al menos 5 veces por semana en base a una escala de 0 a 5 estandarizada, donde 0 representa deposiciones fecales normales, y 5 representa diarrea muy acuosa. Las muestras de sangre venosa se tomaron a intervalos regulares para respuestas inmunes de anticuerpos anti-humanos de primates (PAHA). Las biopsias de colon se tomaron en tres sitios (1, 3 y 6 cm a partir del extremo distal del colon) a intervalos durante el tratamiento y el periodo de seguimiento, y el tejido se fijó en formalina, se seccionó y se tiñó con hematoxilina y eosina para evaluación histológica.

Las secciones se valoraron mediante un histopatólogo veterinario, que estaba ciego respecto a los grupos de tratamiento. El sistema de valoración, de 0 (normal) a 4 (severo), usó 3 criterios independientes como sigue (Madara y col., 1985). El primer parámetro fue "actividad" - número de neutrófilos infiltrados, el segundo fue "cronicidad" - extensión de cambios permanentes a la morfología del colon, incluyendo pérdida de criptas y alteraciones en estructuras glandulares, que incrementan lentamente característicamente durante la duración del curso de la colitis, y el tercero fue "hiperplasia" - incremento anormal en grosor de tejido mucosal, incluyendo tejido celular e intersticial. Se determinó un valor de histología medio se determinó a partir de los tres niveles de biopsia, para cada uno de los 3 parámetros evaluados, en cada punto temporal.

Los pesos corporales para Fase I y Fase II se muestran en las figuras 1A-1D y 2A-2D, respectivamente. Los valores de diarrea para Fase I y Fase II se muestran en las figuras 3A-3D y 4A-4D, respectivamente. Los valores de "actividad" para Fase I y Fase II se muestran en las figuras 5A-5D y 6A-6D, respectivamente. Los valores de "cronicidad" para Fase I y Fase II se muestran en las figuras 7A-7D y 8A-8D, respectivamente. Los valores de "hiperplasia" para Fase I y Fase II se muestran en las figuras 9A-9D y 10A-10D, respectivamente.

Se sometió a eutanasia un animal (#25285) en el grupo control de Fase I durante el periodo de tratamiento para una hernia inguinal incrementada no relacionada con colitis ulcerativa o régimen de tratamiento. No murió ningún animal en el grupo tratado de Fase I. Para la Fase II, tanto los grupos control como los grupos tratados tuvieron un animal muerto durante el periodo de tratamiento. De los animales supervivientes, el grupo tratado tuvo un incremento de peso corporal en porcentaje mayor que el grupo control tanto en el estudio de Fase I como en el estudio de Fase II durante todo el periodo de estudio (Figuras 1A-1D y 2A-2D). El incremento del peso corporal fue el más prominente de 4 a 6 semanas después del final del periodo de dosificación. Lo más interesantemente, el seguimiento a largo plazo en los animales hasta 51 semanas después del periodo de dosificación para el estudio de Fase I y 27 ó 43 semanas durante el estudio de Fase II mostró incluso incremento porcentual de peso corporal mayor en los animales tratados comparados con los animales control. En particular, los animales tratados en la Fase I tuvieron incremento porcentual de peso corporal estadísticamente significativo por encima de los controles ($p < 0,01$). Tres animales (#4199, 12300, 52099) en el grupo tratado que muestran incremento de peso corporal bueno se descubrió que tenían menos de 20 meses en el inicio del estudio y el incremento de peso corporal pudo deberse al crecimiento normal de animales jóvenes.

El efecto de tratamiento de CPI-1697 en valores de diarrea de CTT se resume en las figuras 3A-3D y 4A-4D. El valor de diarrea promedio semanal medio del grupo mostró una mejora (disminución de la puntuación) en el grupo tratado durante el curso del estudio en estudio de Fase II mientras que el grupo control no mostró ninguna mejora (figuras 4A-4D). Las mejoras en valores de diarrea empezaron correctamente después de la aparición del tratamiento y tendieron a mantenerse después de la cesación del tratamiento en el estudio de Fase II. Para el estudio de Fase I, la mejora en valores de diarrea no fue obvia por el tratamiento (figuras 3A-3D).

El efecto de tratamiento de CPI-1697 en valores de "actividad" que representan infiltración de neutrófilos en colon de CTT se resume en las figuras 5A-5D y 6A-6D. En el estudio de la Fase I (figuras 5A-5D), tanto el grupo control como el grupo tratado tuvieron disminuida la infiltración de neutrófilos correcta después de la iniciación del estudio. El grupo tratado tuvo incrementada la infiltración de neutrófilos durante el periodo de la Semana 0 a la Semana 8 y disminuyó sustancialmente la infiltración de neutrófilos de la Semana 8 a la Semana 10. En contraste, el grupo control tuvo disminuida ligeramente la infiltración de neutrófilos durante la Semana 0 a la Semana 10. Sin embargo, por la Semana 55, el grupo tratado tuvo ligeramente menos infiltración de neutrófilos que el grupo control. En el estudio de Fase II (figuras 6A-6D), el grupo control tuvo infiltración de neutrófilos disminuida (grupo medio) durante el periodo de estudio de 12 semanas y reducción adicional por la Semana 35 mientras que el grupo control no mostró ningún decrecimiento.

El efecto de tratamiento de CPI-1697 en valores de “cronicidad” que representan extensión de cambios permanentes para la morfología del colon, incluyendo pérdida de criptas y alteraciones en estructuras glandulares de CTT se resume en las figuras 7A-7D y 8A-8D. En el estudio de Fase I (figuras 7A-7D), tanto el grupo control como el grupo tratado tuvieron correcta morfología de colon correcta mejorada después de iniciación del tratamiento, sin embargo tal mejora no se mantuvo. El grupo tratado no tuvo ningún efecto beneficioso adicional en morfología de colon sobre el grupo control. En el estudio de Fase II (figuras 8A-8D), el grupo tratado tuvo morfología de colon mejorada dos semanas después de la iniciación de dosificación, exactamente lo contrario del grupo control. Además, el grupo tratado tuvo a largo plazo más mejora en morfología de control que el grupo control en la semana 35 comparado con la Semana 12.

El efecto del tratamiento de CPI-1697 en valores de “hiperplasia” que representan incremento anormal en grosor de tejido mucosal, incluyendo tejido celular e intersticial de CTT se resume en figuras 9A-9D y 10A-10D. En el estudio de Fase I (figuras 9A-9D), similar a cambio de morfología de colon, tanto el grupo control como el grupo tratado tuvieron disminuido el grosor correcto de tejido mucosal después de iniciación de tratamiento, sin embargo tal mejora no se mantuvo. El grupo tratado no tuvo ningún efecto beneficioso adicional en grosor de tejido mucosal sobre el grupo control. En el estudio de Fase II (figuras 10A-10D), el grupo tratado tuvo cambios similares como el grupo control en grosor de tejido mucosal durante el periodo de estudio de 12 semanas. Sin embargo, el seguimiento a largo plazo mostró que el grupo tratado tuvo disminuido el grosor de tejido mucosal comparado con el grupo control a largo plazo en la Semana 35.

Las muestras de suero de cada animal se ensayaron mediante ELISA para niveles de fármaco (anticuerpo anti-IFNAR-1 de CPI-1697) detectando IgG4 humana, y para respuestas de anticuerpo antihumano de primate (PAHA). Como se muestra en las figuras 11A-11B, los niveles de plasma de aproximadamente 50-270 ng/ml de plasma se mantuvieron durante toda la fase de tratamiento y los niveles de PAHA fueron bajos o indetectables en la mayoría de los animales (figuras 12A-12B). Aunque todos los animales recibieron la misma dosis en base al peso, se observó que ciertos animales tienen niveles circulatorios más altos de CPI-1697, de hasta tres veces más altos. Este intervalo de concentraciones de CPI-1697 ha demostrado previamente ser efectivo en bloquear IFNAR-1 *in vitro* en estudios de primates. Dos animales (#8494 y #52099) desarrollaron en Fase I respuestas de PAHA detectables y no se observó ninguna respuesta de PAHA detectable en cualquiera de los animales en Fase II (figuras 12A-12B). Estos resultados sugieren que el régimen de dosificación usado, incluyendo una dosis inicial alta de CPI-1697 no conduce a una respuesta inmunológica significativa a esta proteína (anticuerpo humano). Esos dos animales tuvieron también niveles de fármaco bajos (figuras 11A-11B).

Los niveles de IFNAR1 en células de la sangre blancas se ensayaron mediante citometría de flujo y los niveles de receptor normalizado de estudio de Fase II se resumieron en la figura 13. Los niveles de receptor de estudio de Fase I no se obtuvieron hasta que los ensayos de FACS no se optimizaron después. Se logró bloqueo de receptor de interferón a diversos niveles, aunque no completo, en los animales tratados. Los animales que tenían niveles más altos de CPI-1697 en suero tendieron a tener mejor bloqueo de receptor.

En resumen, tanto en estudios de Fase I como en estudios de Fase II, el tratamiento de CPI-1697 generó beneficio de incremento de peso durante el control en titíes afectados de colitis. El estudio de Fase II con periodo de tratamiento de CPI-1697 más largo tuvo incluso mejor efecto con mejora en valores de diarrea y valores de histopatología incluyendo “actividad”, “cronicidad” e “hiperplasia”. En el estudio de Fase II, hubo una correlación entre respuesta clínica positiva y niveles circulantes más altos de CPI-1697. Hubo también una correlación positiva entre carencia de respuesta de PAHA y valores clínicos incrementados. Tales correlaciones no se encontraron en el estudio de Fase I. Estas correlaciones no fueron susceptibles de probarse mediante procedimientos estadísticos debido al pequeño tamaño de la muestra en el estudio. En conjunto estos resultados indican que el tratamiento con un anticuerpo humanizado para IFNAR-1 produjo una mejora clínica en CTT con colitis. El efecto fue más crónico que agudo y tendió a mantenerse más allá de las fases del tratamiento, como se muestra mediante estudio de seguimiento a largo plazo. El tratamiento a largo plazo en estudio de Fase II produjo efectos más fuertes que tratamientos más cortos. La exposición incrementada, tanto en niveles temporales como en niveles de plasma, a CPI-1697 estuvo asociada con respuesta mayor.

REIVINDICACIONES

1. El uso de un anticuerpo anti-receptor de interferón de tipo I para preparar un medicamento para el tratamiento de un paciente afectado con una Enfermedad Inflamatoria Intestinal.

2. El uso de la reivindicación 1 en el que dicha Enfermedad Inflamatoria Intestinal es Enfermedad Celíaca.

3. El uso de la reivindicación 1 en el que dicha Enfermedad Inflamatoria Intestinal es Enfermedad de Crohn.

4. El uso de la reivindicación 1 en el que dicha Enfermedad Inflamatoria Intestinal es colitis ulcerativa.

5. El uso de la reivindicación 1 en el que dicho medicamento es administrable mediante una vía seleccionada del grupo constituido por un bolo intravenoso, un bolo lento intravenoso, e infusión.

6. El uso de la reivindicación 1 en el que dicho medicamento es administrable mediante una vía seleccionada del grupo constituido por subcutánea, intramuscular, transdérmica, intradérmica, e intravenosamente.

7. El uso de la reivindicación 1 en el que dicho medicamento es administrable mediante una vía de administración mucosal.

8. El uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el que la administración es mediante inhalación.

9. El uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el que la administración es nasofaríngeamente.

10. El uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el que la administración es oralmente.

11. El uso de la reivindicación 1 en el que dicho medicamento es administrable en un intervalo de dosificación de entre 0,1 mg/kg de peso corporal y 50 mg/kg de peso corporal, inclusive.

12. El uso de la reivindicación 11 en el que dicho medicamento es administrable en un intervalo de dosificación de entre 0,5 mg/kg de peso corporal y 10 mg/kg de peso corporal, inclusive.

13. El uso de la reivindicación 12 en el que dicho medicamento es administrable en un intervalo de dosificación de entre 2 mg/kg de peso corporal y 5 mg/kg de peso corporal, inclusive.

14. El uso de la reivindicación 1 en el que dicho medicamento es administrable a una frecuencia entre una vez por día y una vez por mes, inclusive.

15. El uso de la reivindicación 14 en el que dicho medicamento es administrable a una frecuencia entre dos veces por semana y cada dos semanas, inclusive.

16. El uso de la reivindicación 14 en el que dicho medicamento es administrable a una frecuencia de aproximadamente una vez por semana.

17. El uso de la reivindicación 1 en el que un segundo compuesto terapéutico seleccionado del grupo constituido por un inmunosupresor, un anti-inflamatorio, un esteroide, un agente inmunomodulador, una citoquina, y un antagonista de TNF, es administrable adicionalmente.

18. El uso de un anticuerpo anti-receptor de interferón de tipo I y un antagonista de interferón de tipo I en la elaboración de medicamentos primero y segundo para tratar un paciente afectado con una Enfermedad Inflamatoria Intestinal en el que el primer medicamento que comprende dicho anticuerpo anti-receptor de tipo I se desea para administrarse a dicho paciente en un primer punto temporal en una dosis tolerizadora y el segundo medicamento que comprende dicho antagonista de interferón I se desea para administrarse a dicho paciente en un segundo punto temporal en dosis terapéuticamente efectiva.

19. El uso de la reivindicación 18 en el que dicho anticuerpo anti-receptor de interferón de tipo I es un anticuerpo anti-IFNAR.

20. El uso de acuerdo con la reivindicación 18 en el que dicho antagonista de interferón de tipo I es un anticuerpo anti-interferón de tipo I.

21. El uso de la reivindicación 18 en el que dicho primer medicamento comprende una dosis de dicho anticuerpo de receptor de interferón de tipo I suficiente para prevenir o reducir la inducción de una respuesta de anticuerpo IgG para repetir administración del citado anticuerpo de receptor de interferón de tipo I.

22. El uso de la reivindicación 18 en el que la dosis de dicho anticuerpo anti-receptor de interferón de tipo I está entre 10 mg/kg de peso corporal a 50 mg/kg de peso corporal, inclusive.

ES 2 313 039 T3

23. El uso de la reivindicación 22 en el que la dosis de dicho anticuerpo anti-receptor de interferón de tipo I está entre 20 mg/kg de peso corporal y 40 mg/kg de peso corporal, inclusive.

5 24. El uso de la reivindicación 23 en el que la dosis de dicho anticuerpo anti-receptor de interferón de tipo I está entre 20 mg/kg de peso corporal y 25 mg/kg de peso corporal, inclusive.

25. El uso de la reivindicación 18 en el que dicho antagonista de interferón de tipo I es administrable en el intervalo de 0,1 mg/kg de peso corporal a 10 mg/kg de peso corporal, inclusive.

10 26. El uso de la reivindicación 25 en el que dicho antagonista de interferón de tipo I es administrable en el intervalo de 0,2 mg/kg de peso corporal a 5 mg/kg de peso corporal, inclusive.

15 27. El uso de la reivindicación 26 en el que dicho antagonista de interferón de tipo I es administrable en el intervalo de 0,5 mg/kg de peso corporal a 2 mg/kg de peso corporal, inclusive.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

FIG. 1A

Control de Fase I: Cambio en Peso Corporal en % Individual

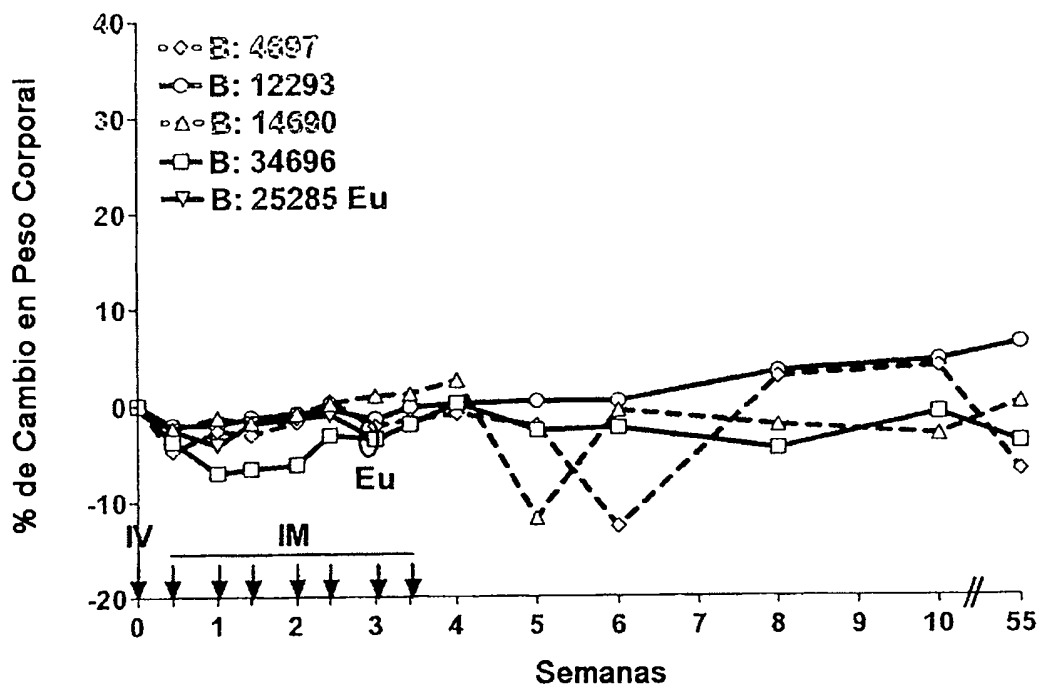


FIG. 1B

Fase I Tratada: Cambio en Peso Corporal en % Individual

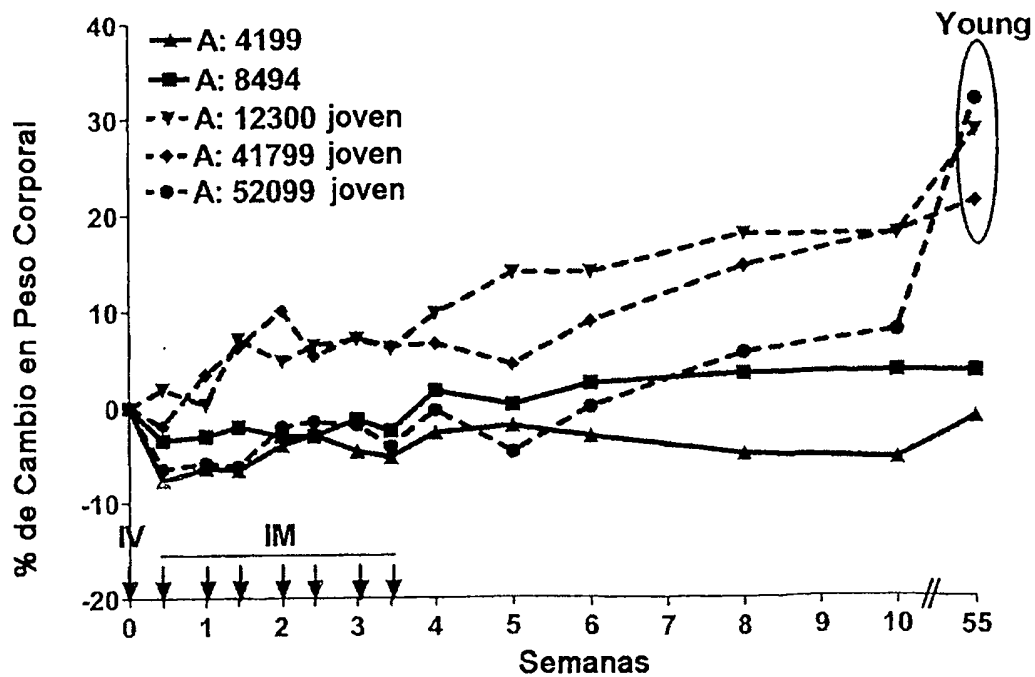


FIG. 1C

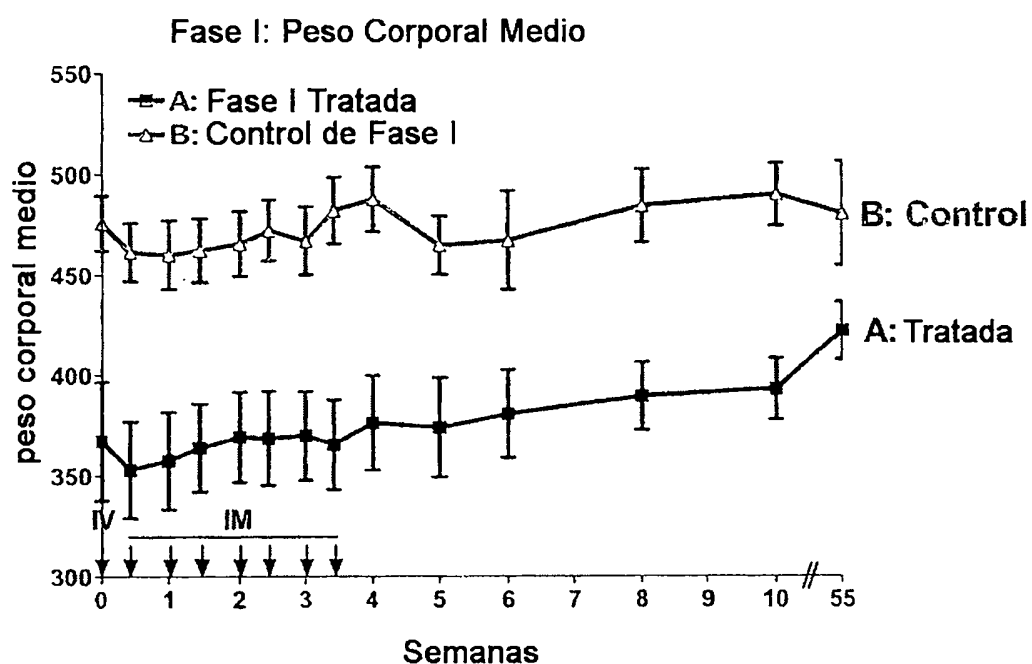


FIG. 1D

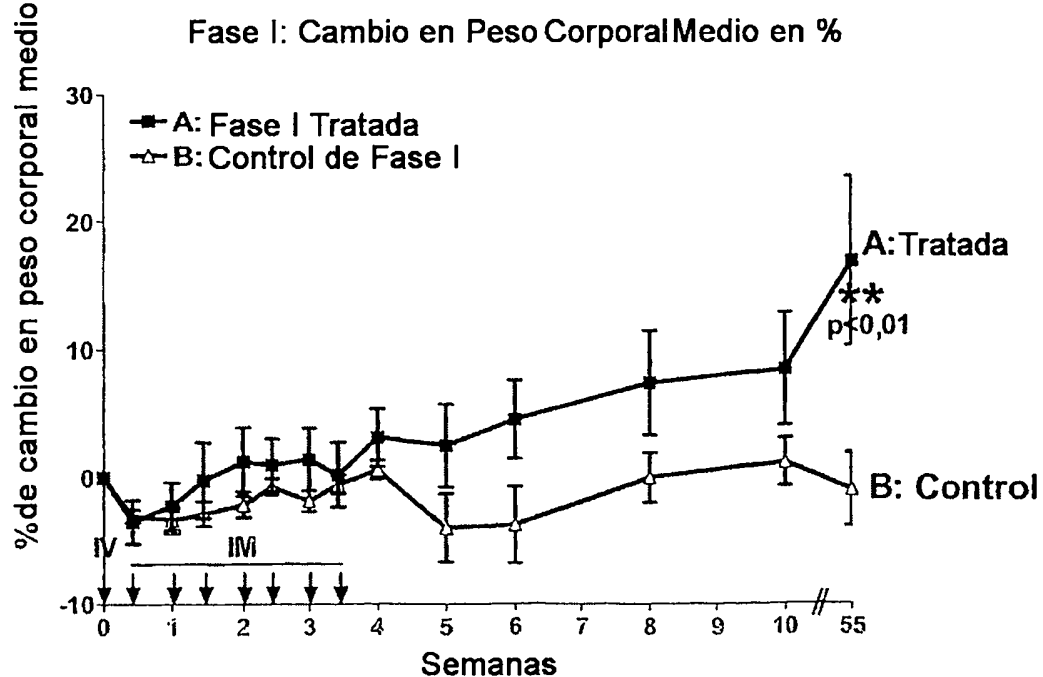


FIG. 2A

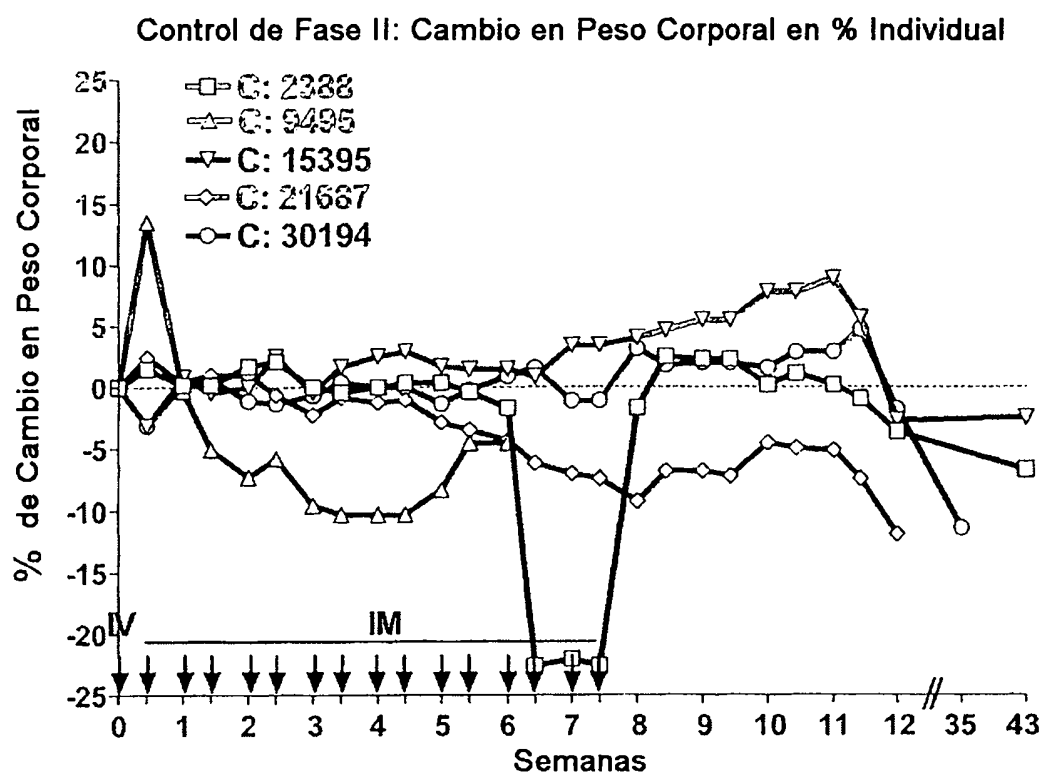


FIG. 2B

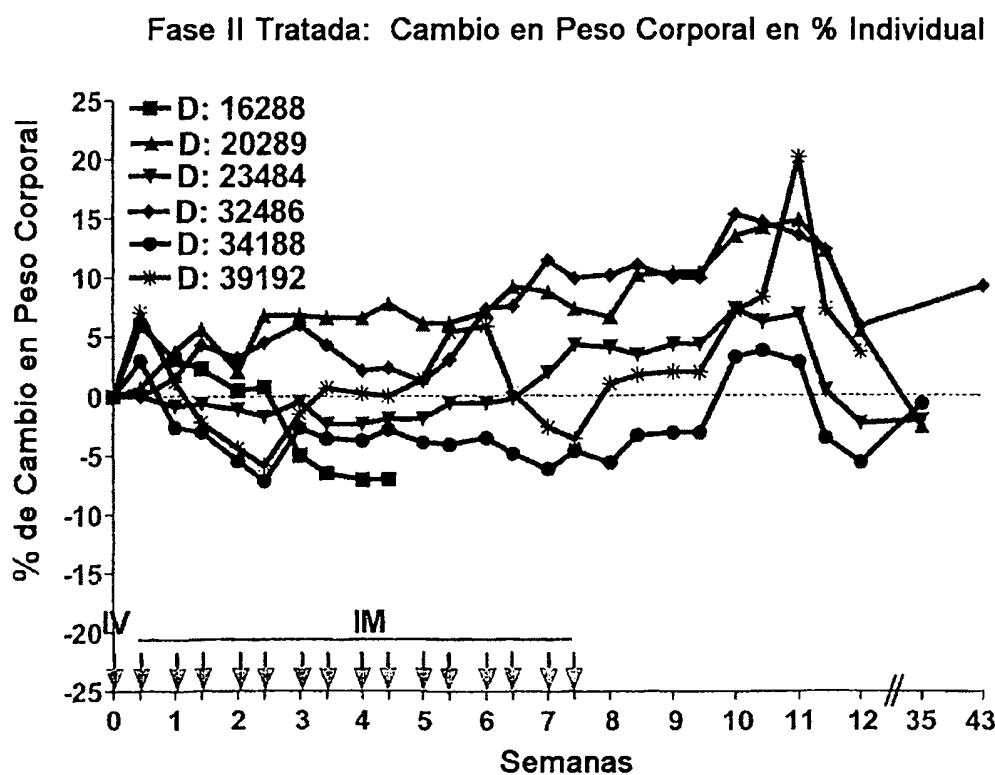


FIG. 2C

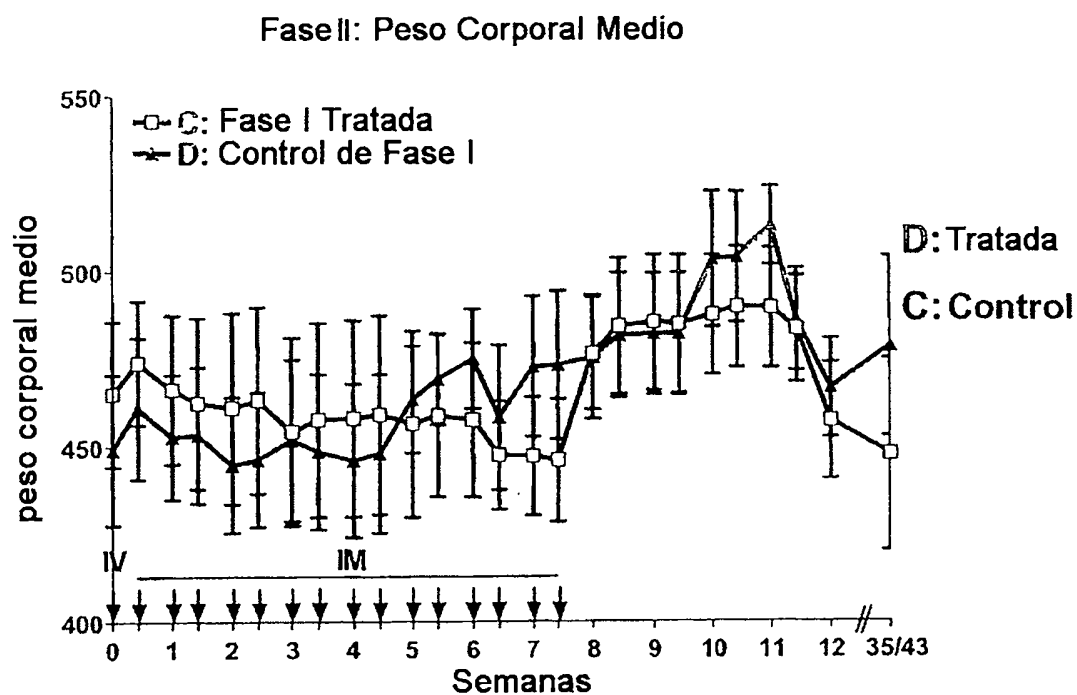


FIG. 2D

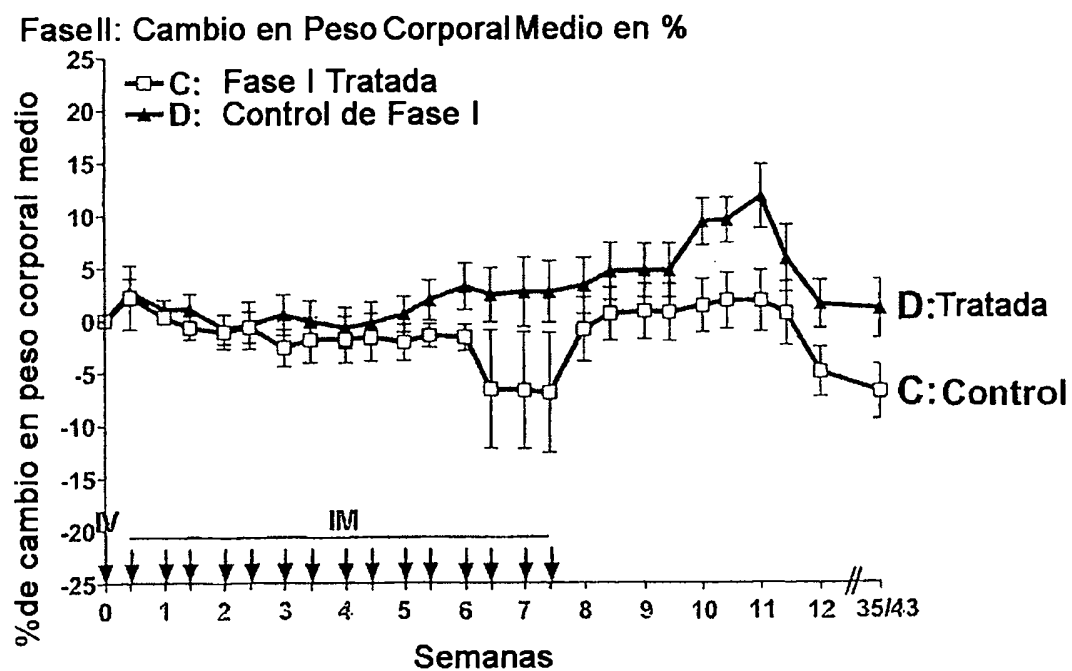


FIG. 3A

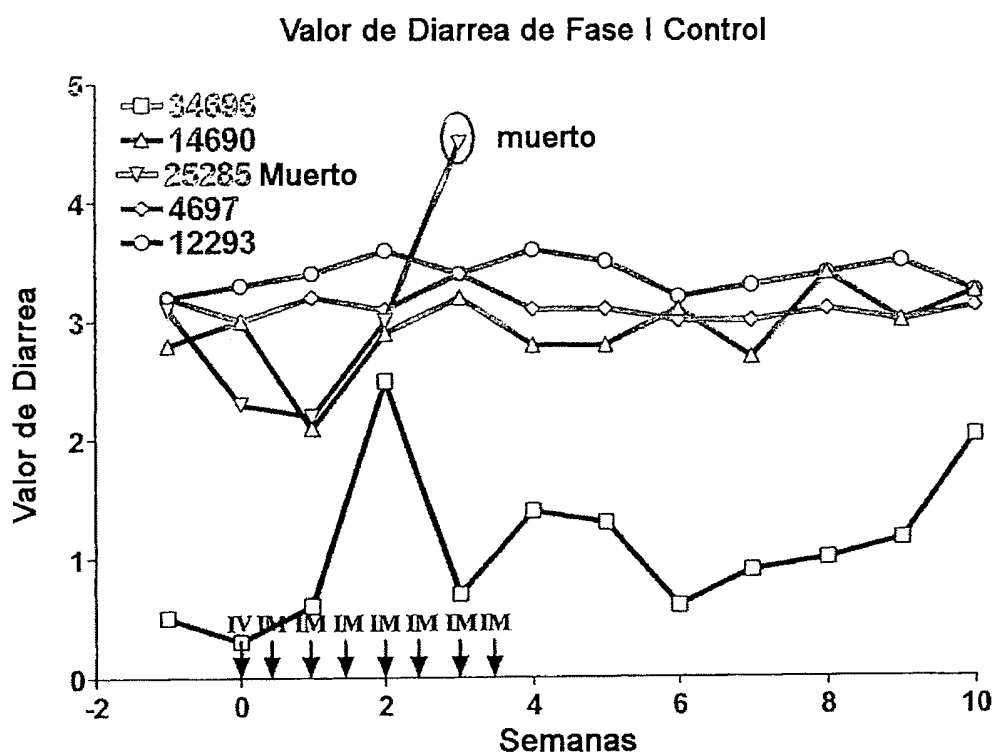


FIG. 3B

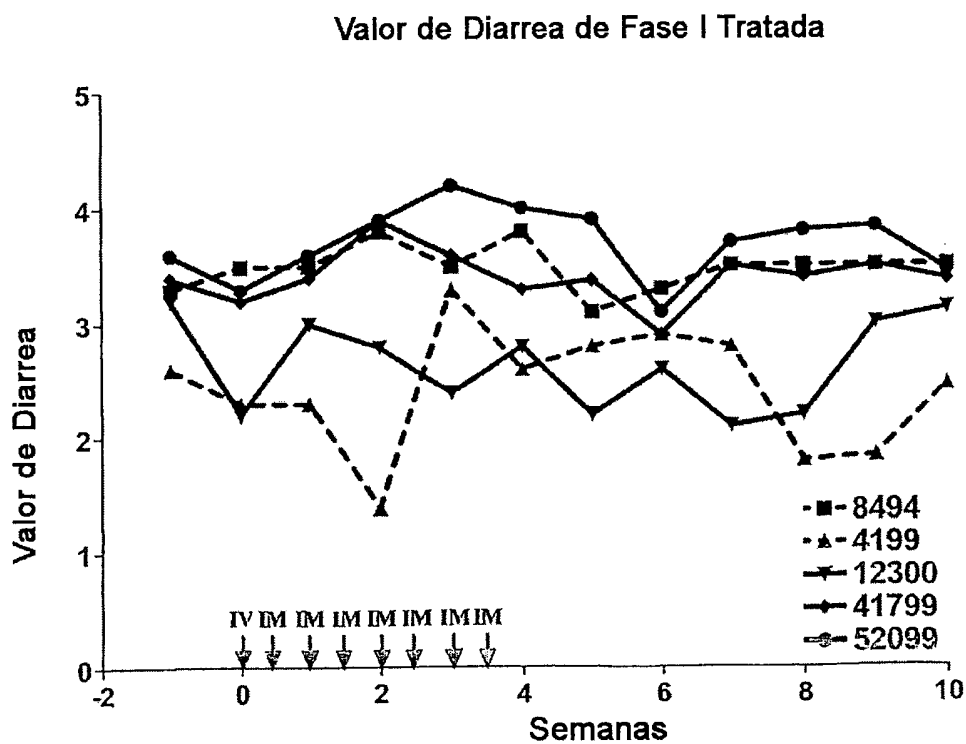


FIG. 3C

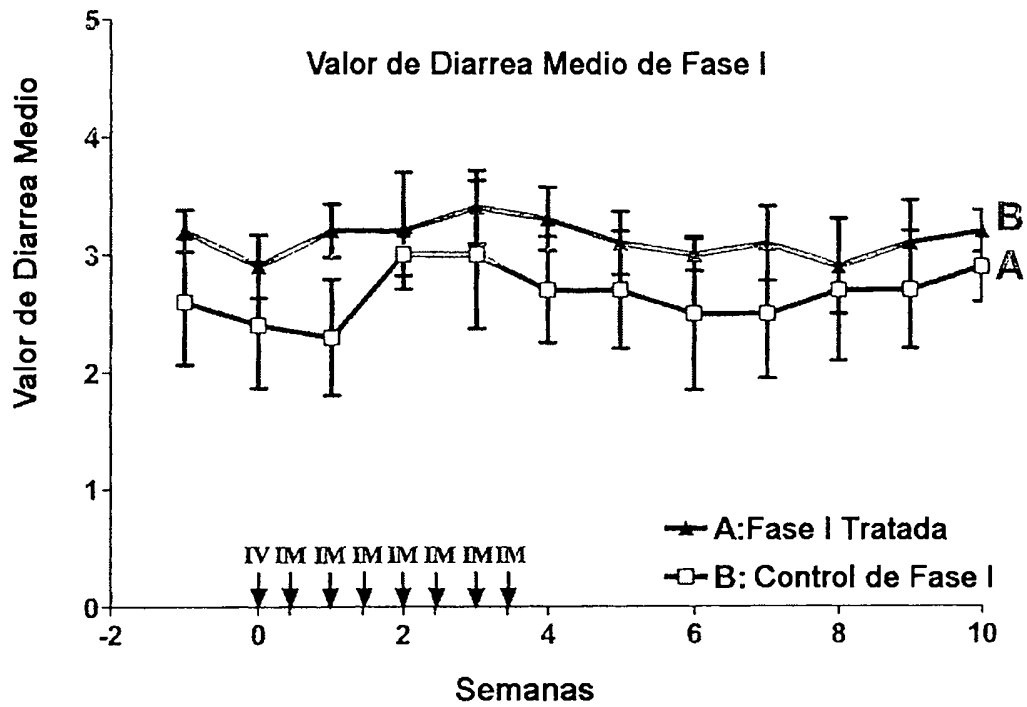


FIG. 3D

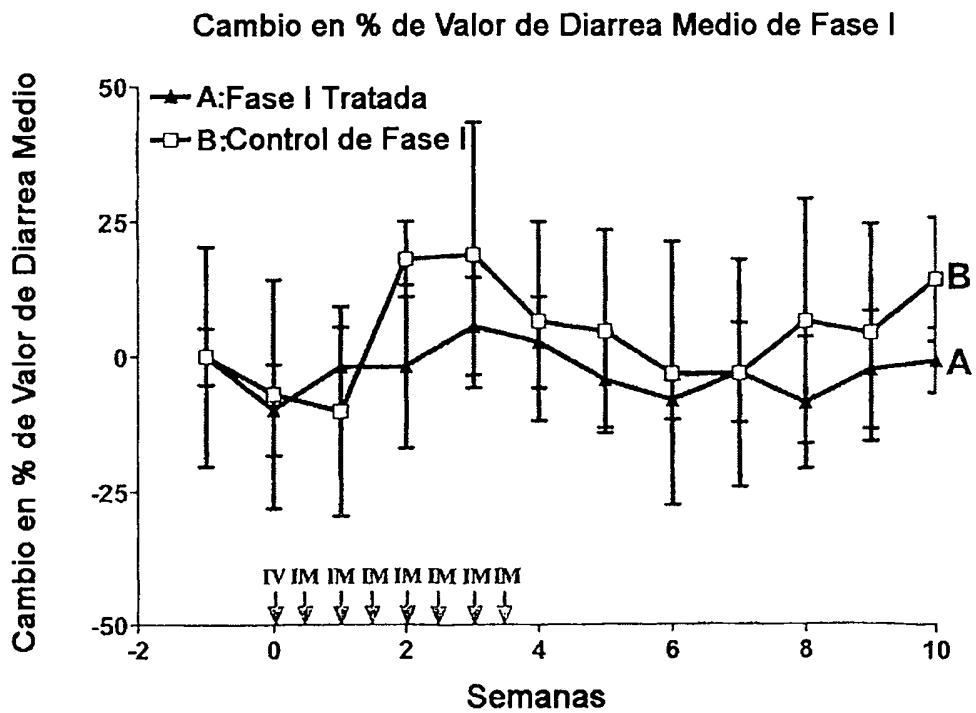


FIG. 4A

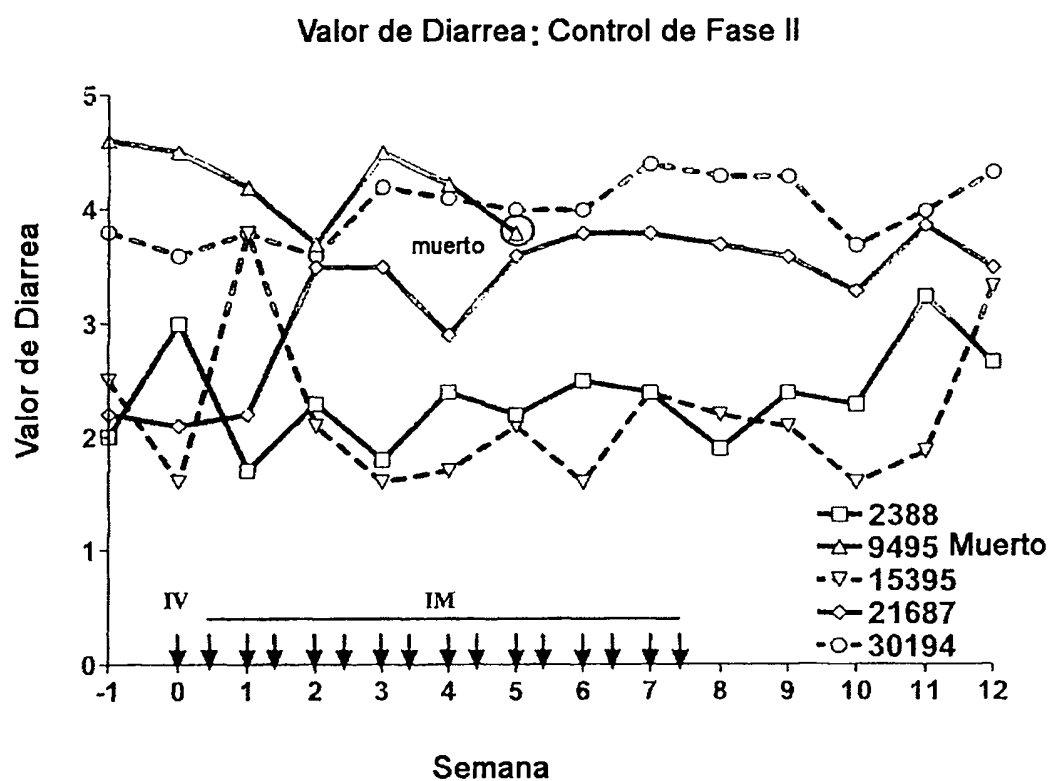


FIG. 4B

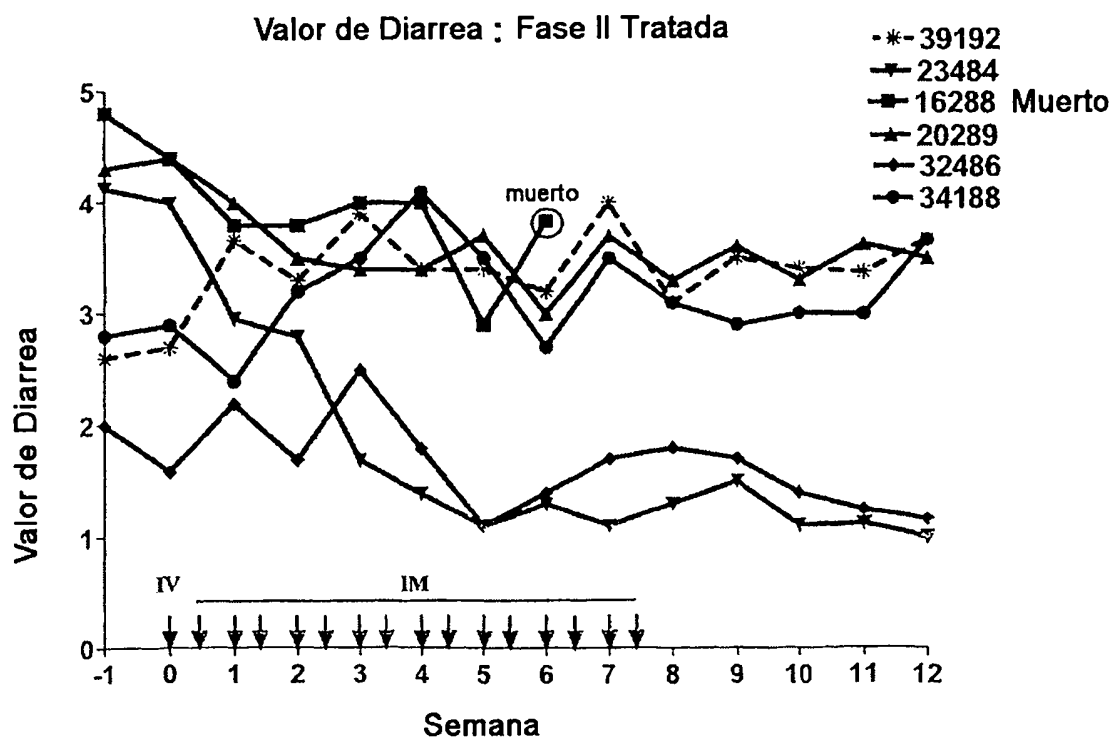


FIG. 4C

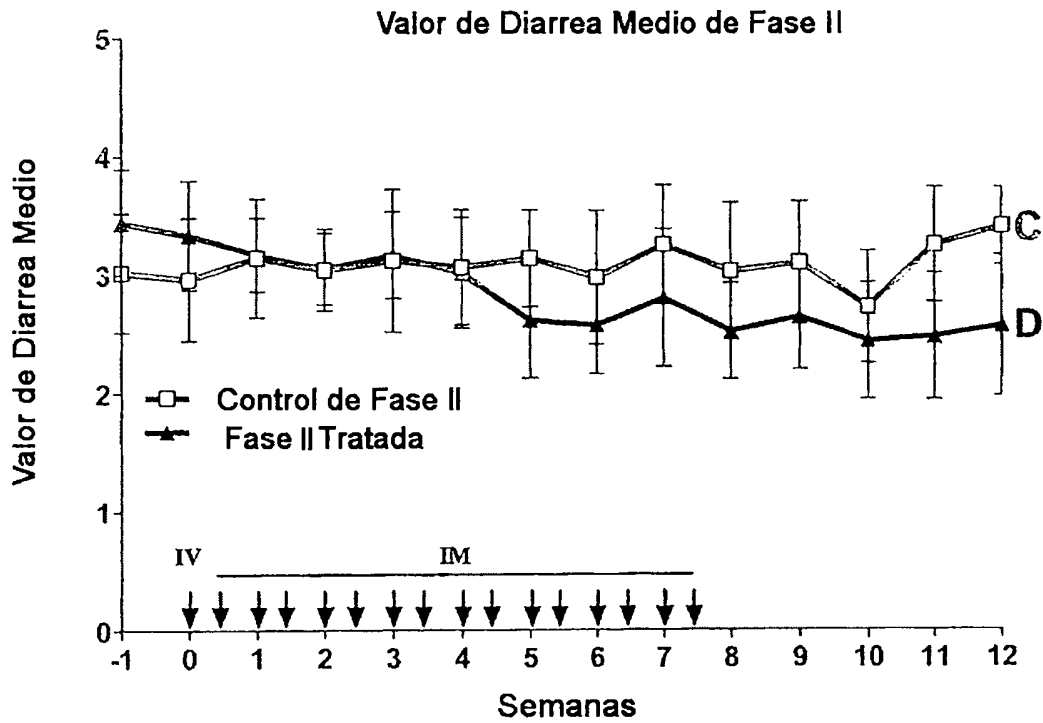


FIG. 4D

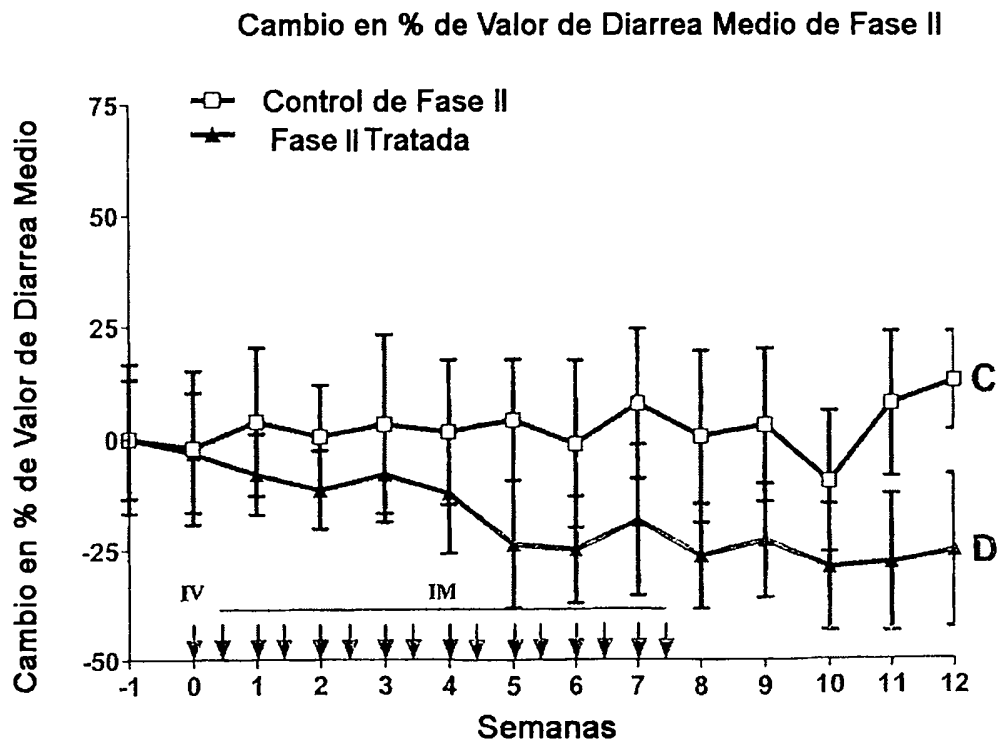


FIG. 5A

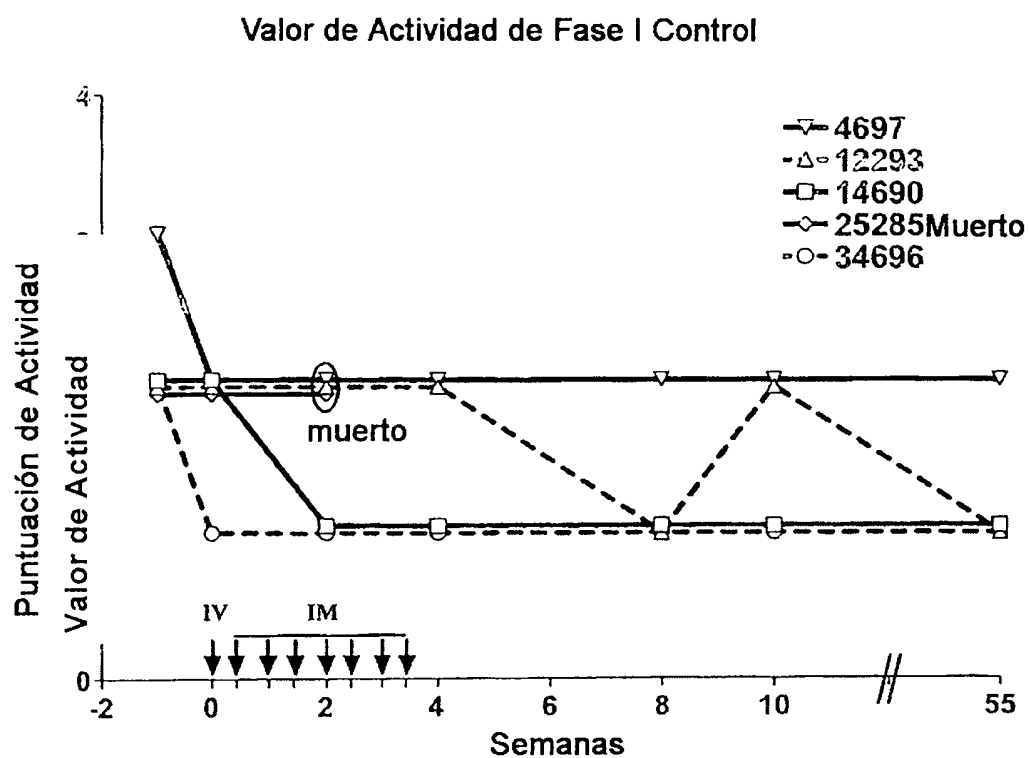


FIG. 5B

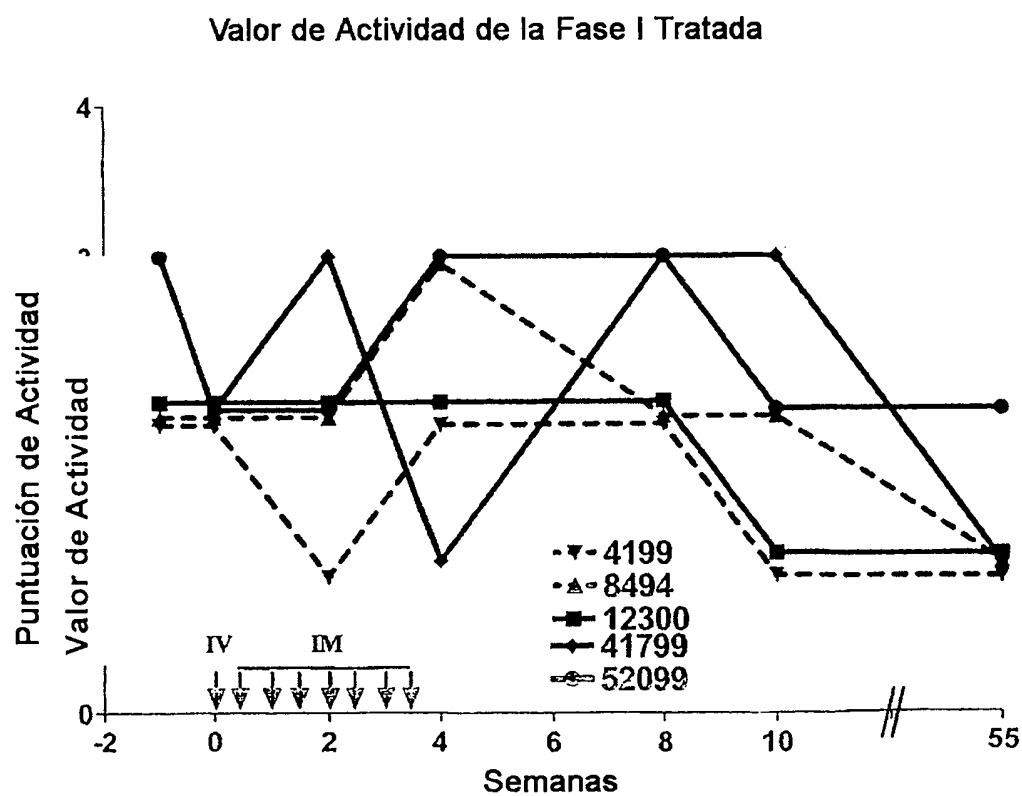


FIG. 5C

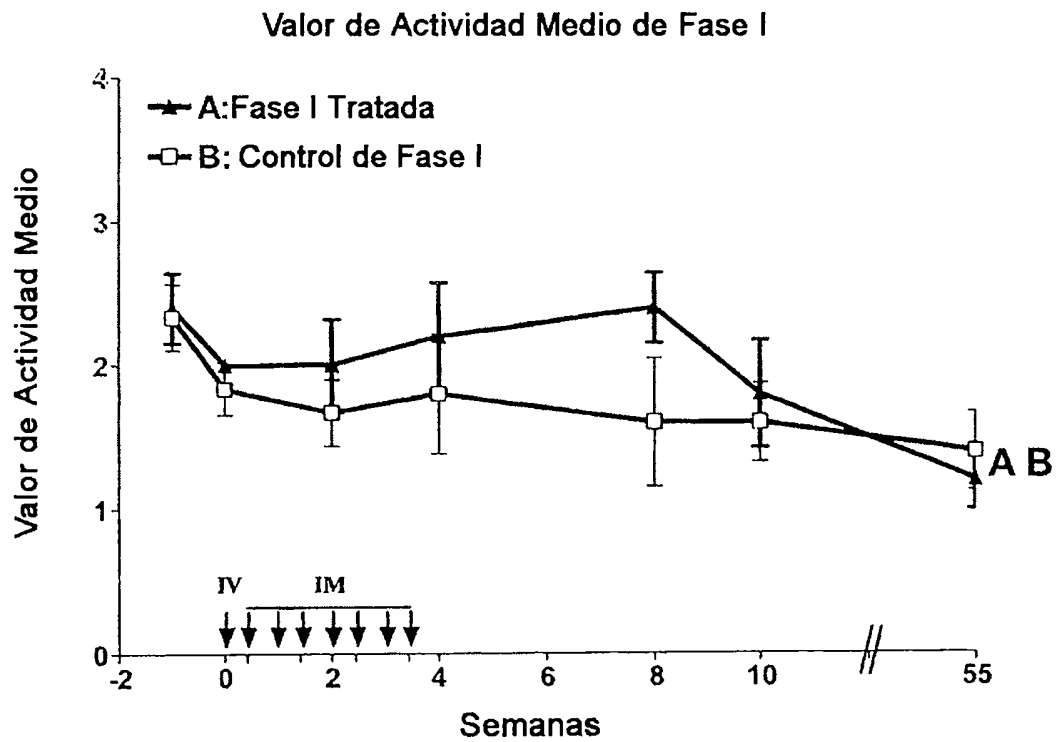


FIG. 5D

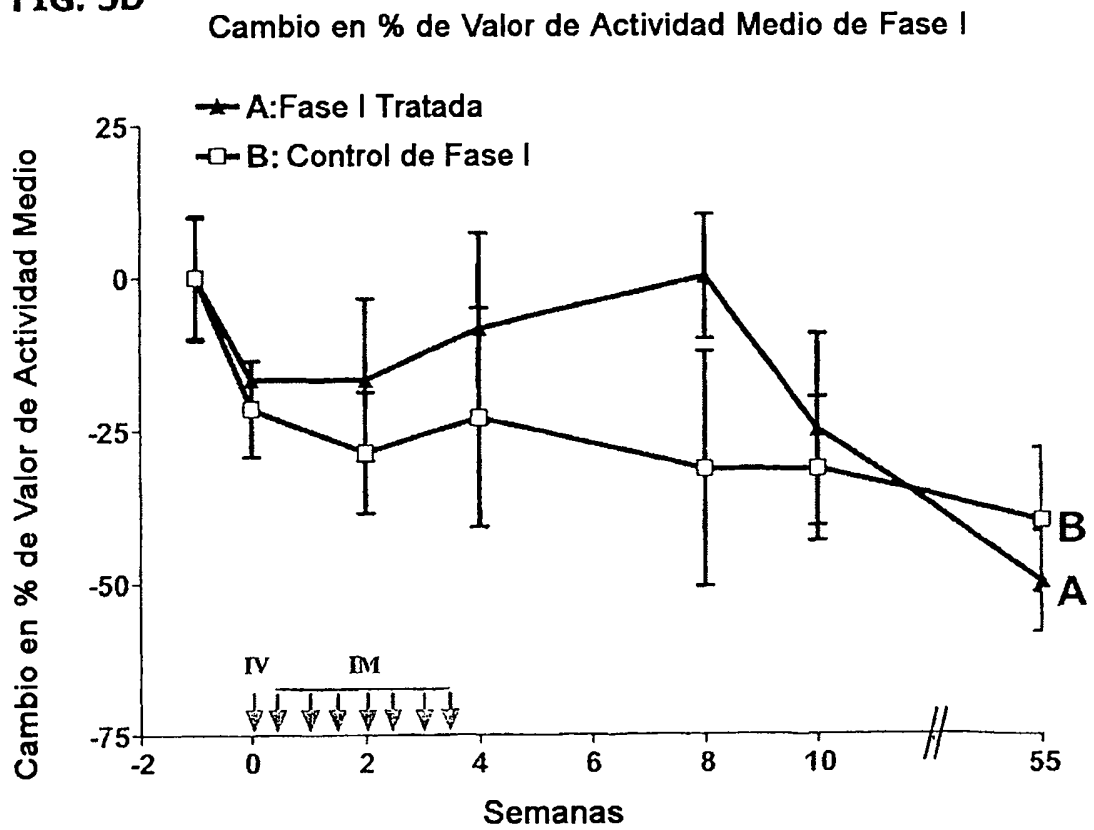


FIG. 6A

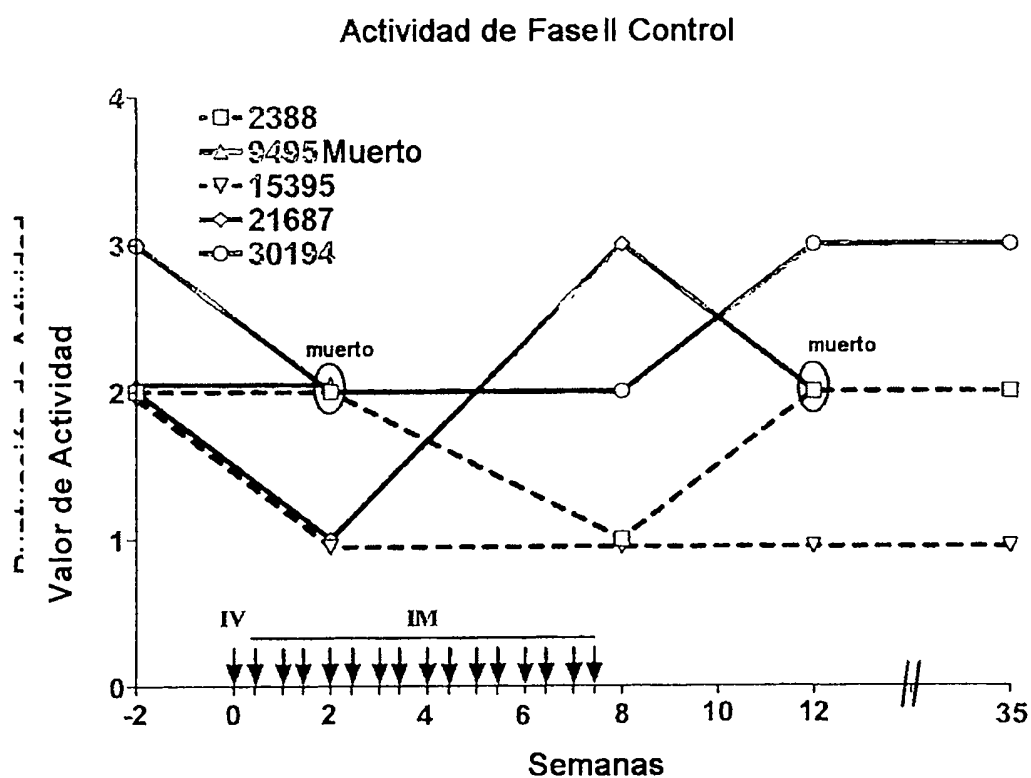


FIG. 6B

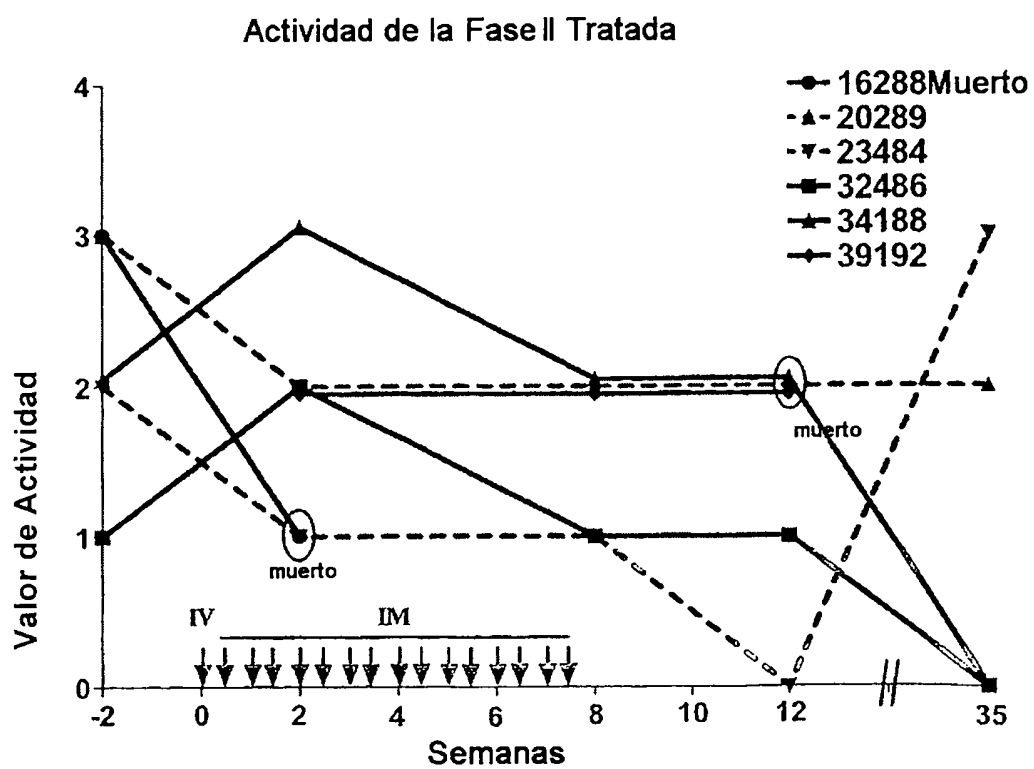


FIG. 6C

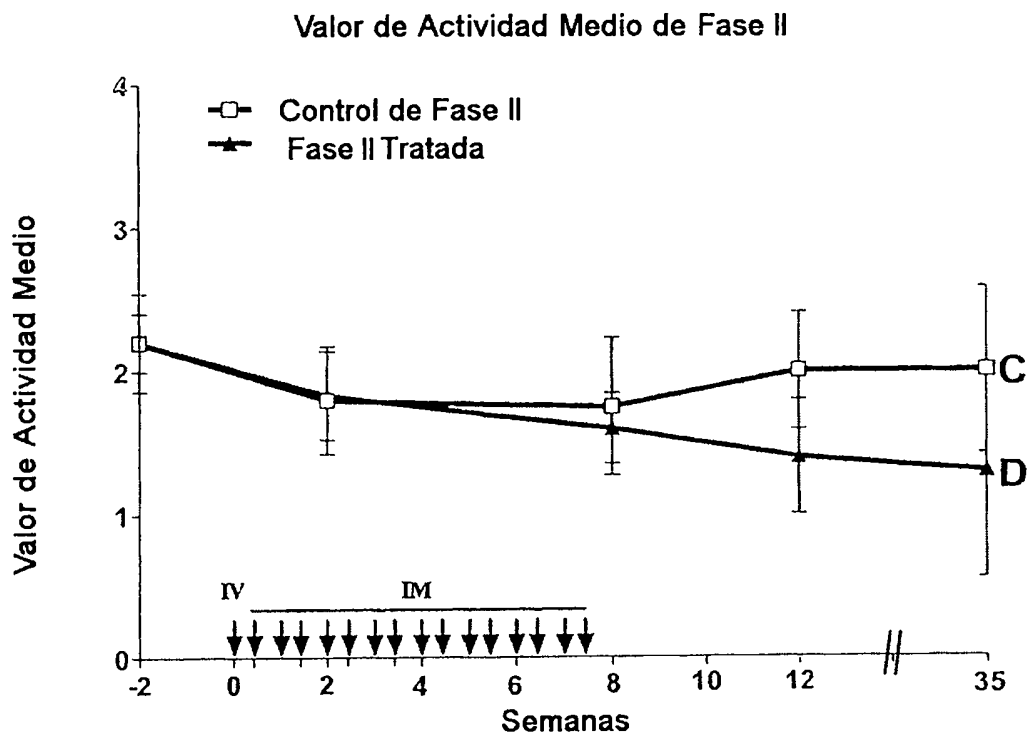


FIG. 6D

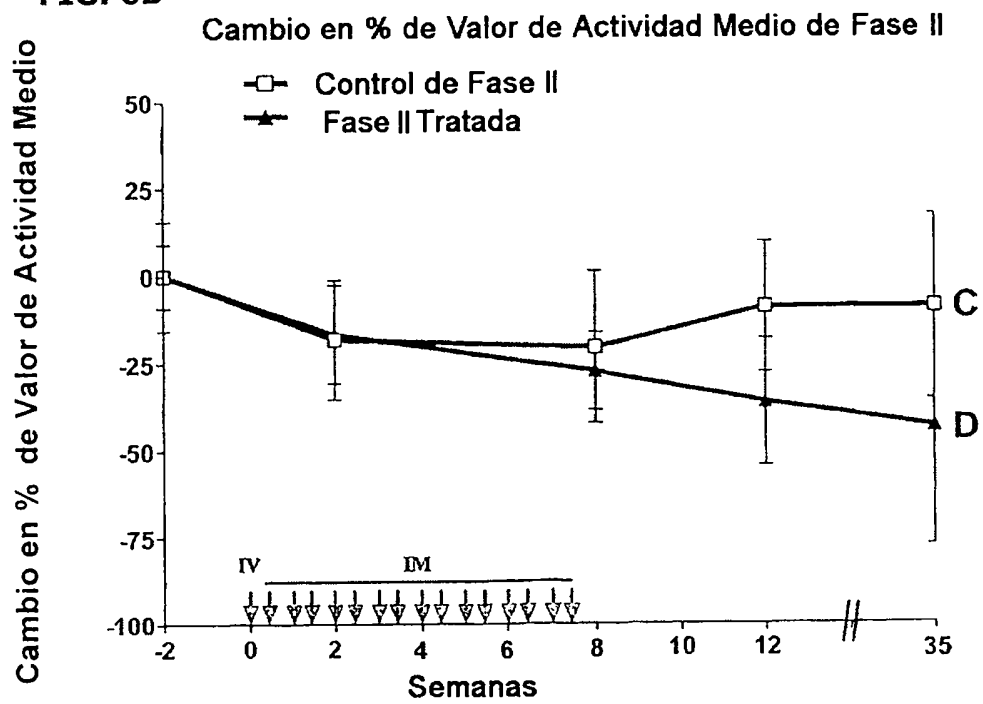


FIG. 7A

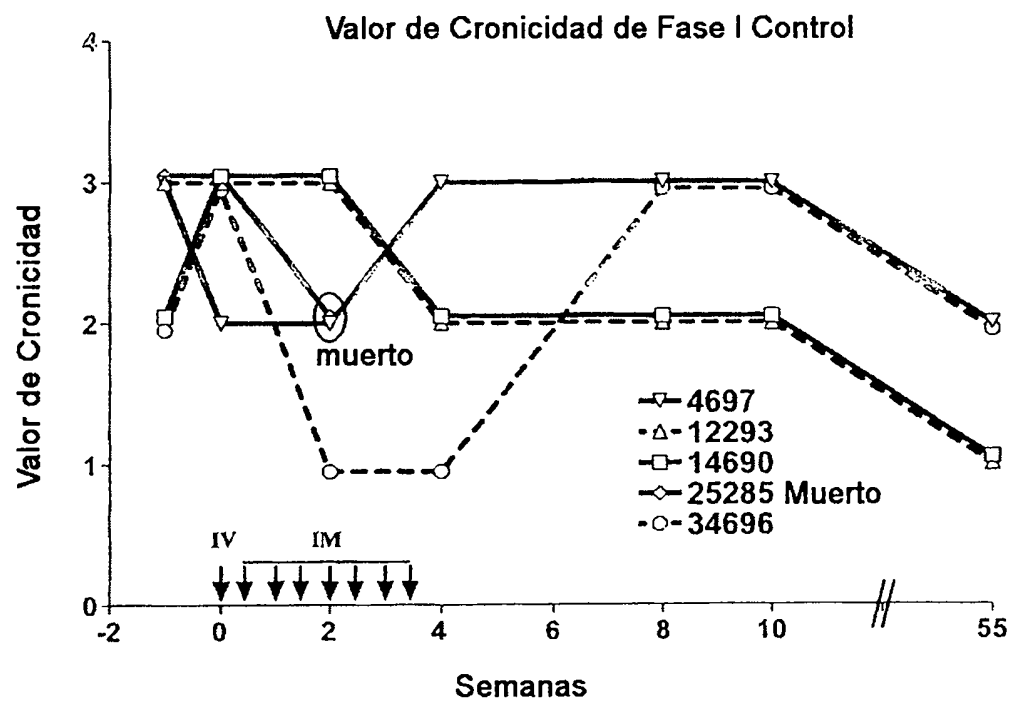


FIG. 7B

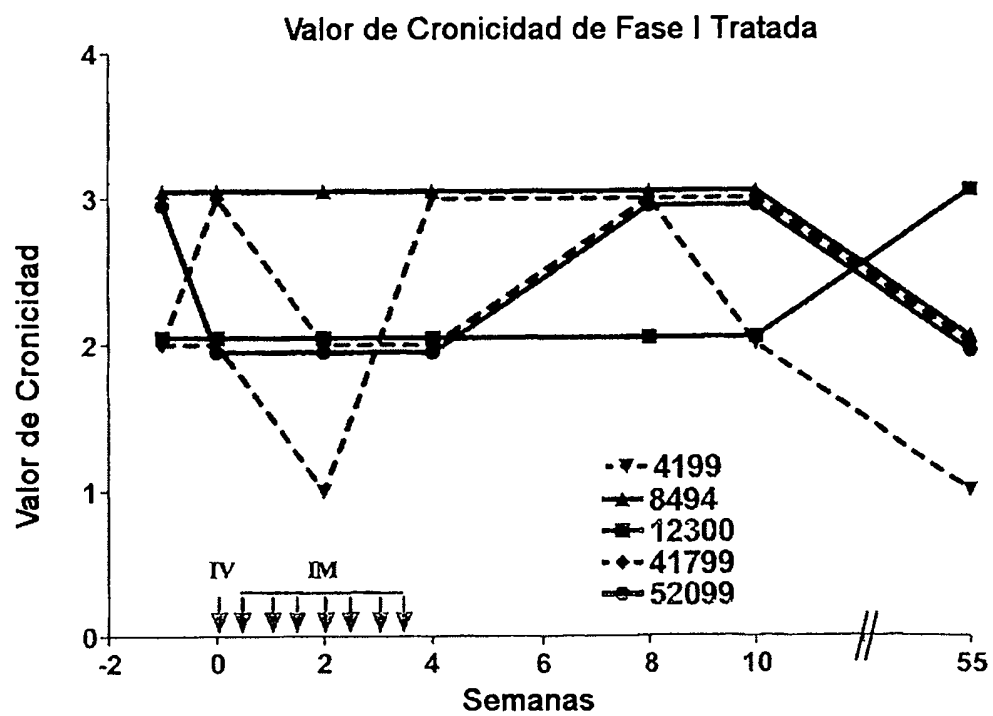


FIG. 7C

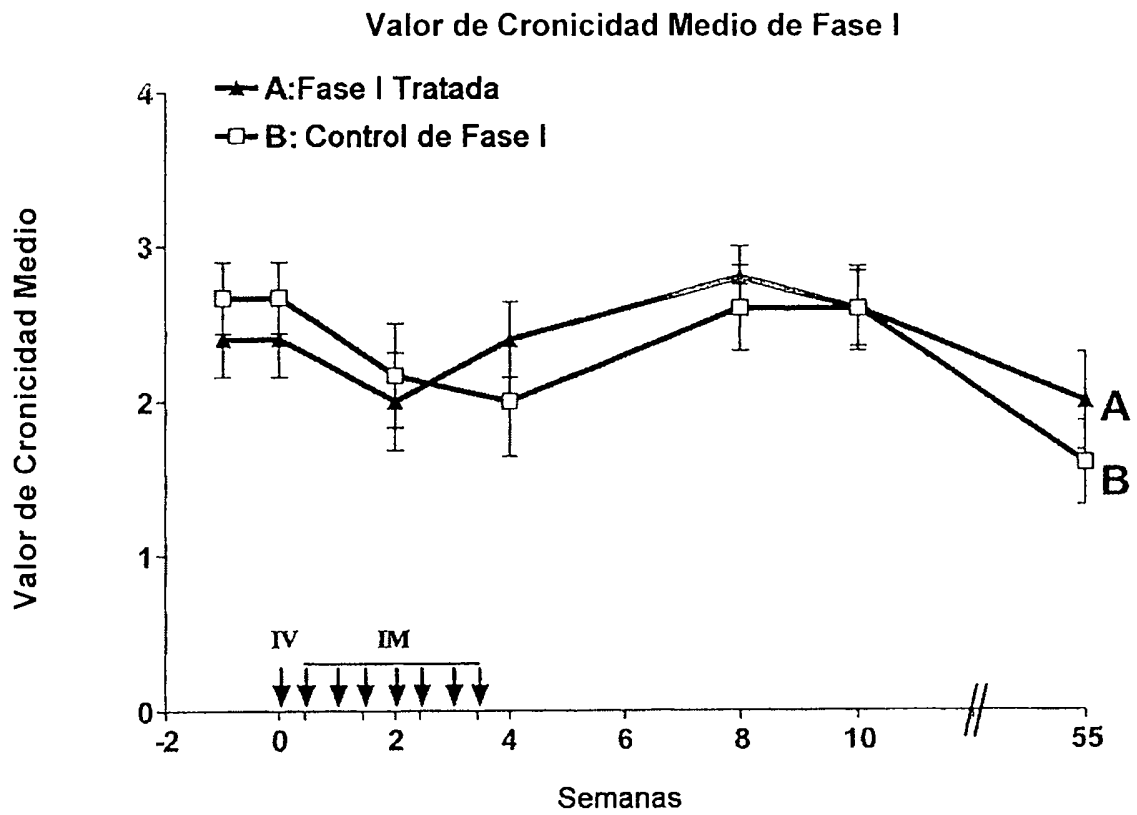


FIG. 7D

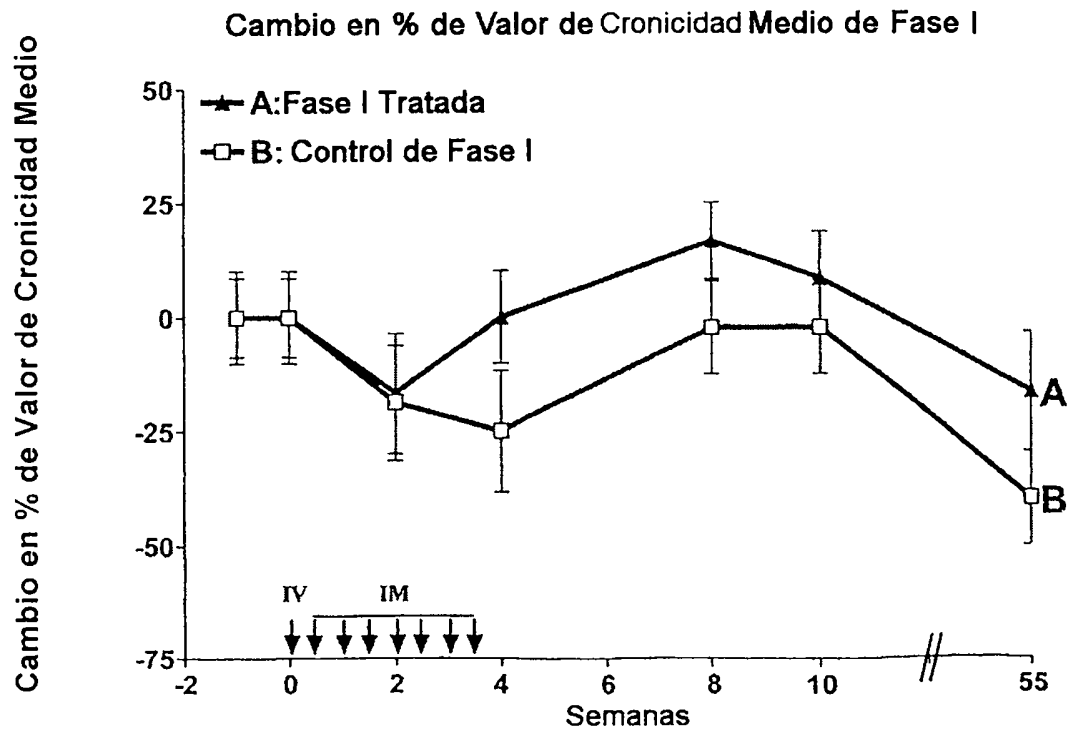


FIG. 8A

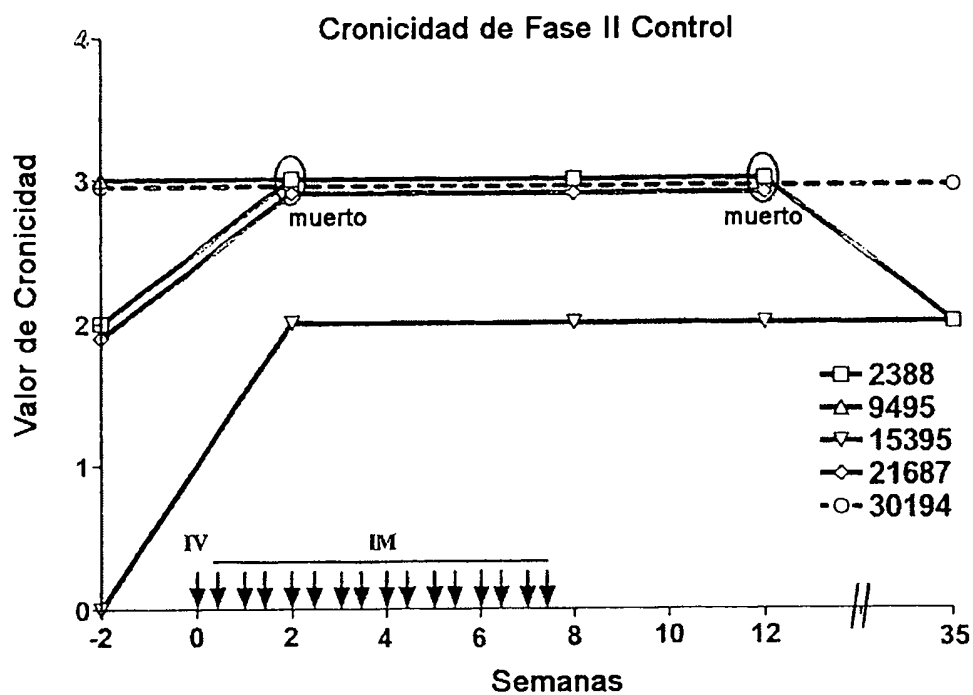


FIG. 8B

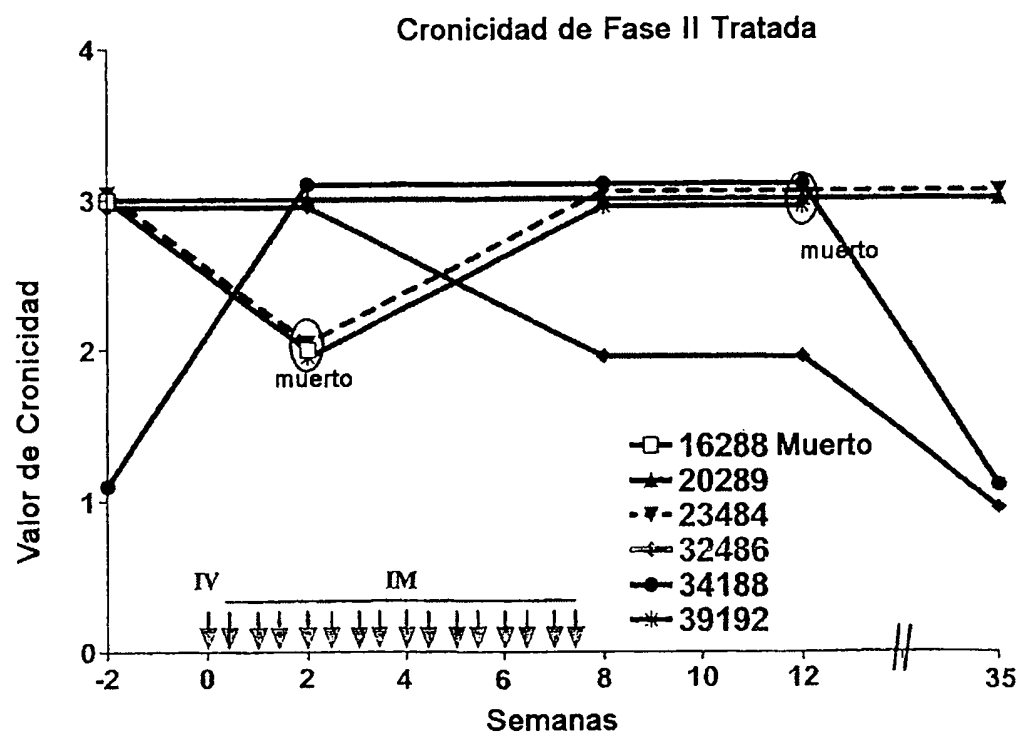


FIG. 8C

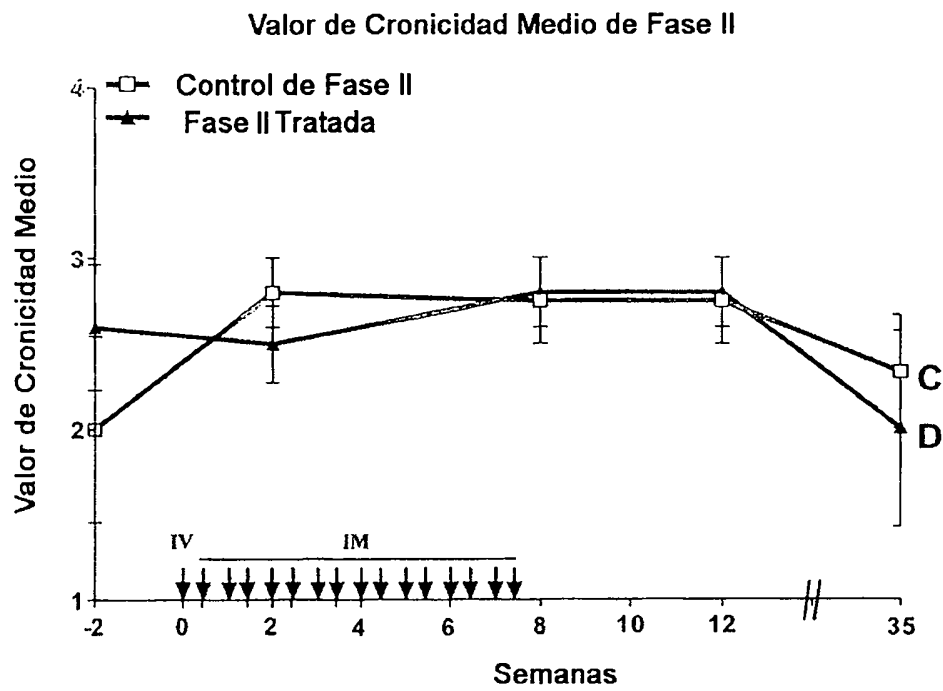


FIG. 8D

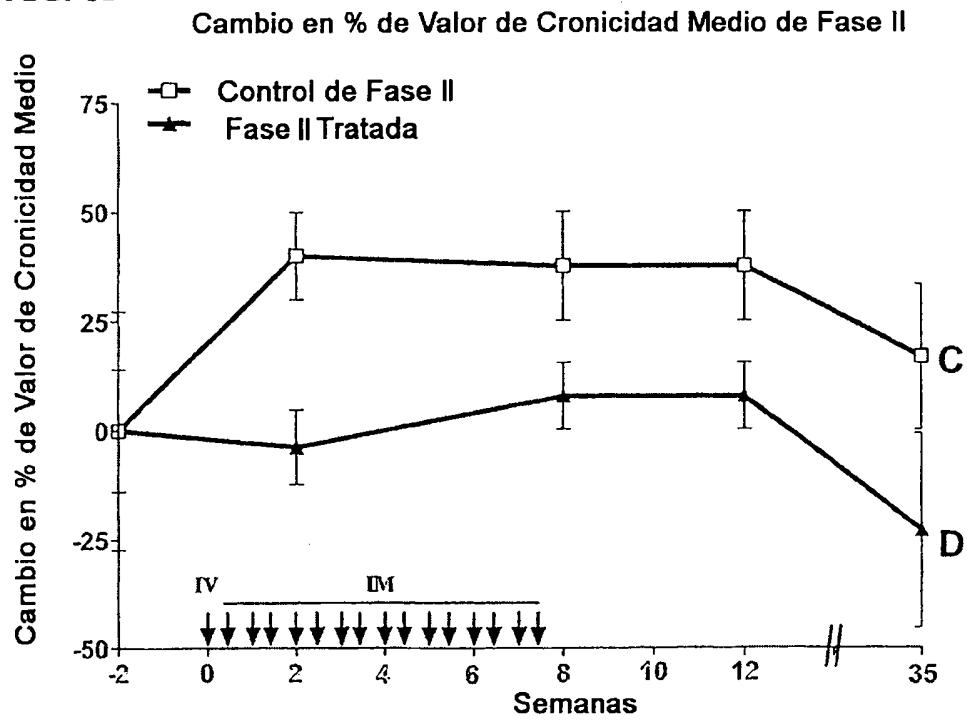


FIG. 9A

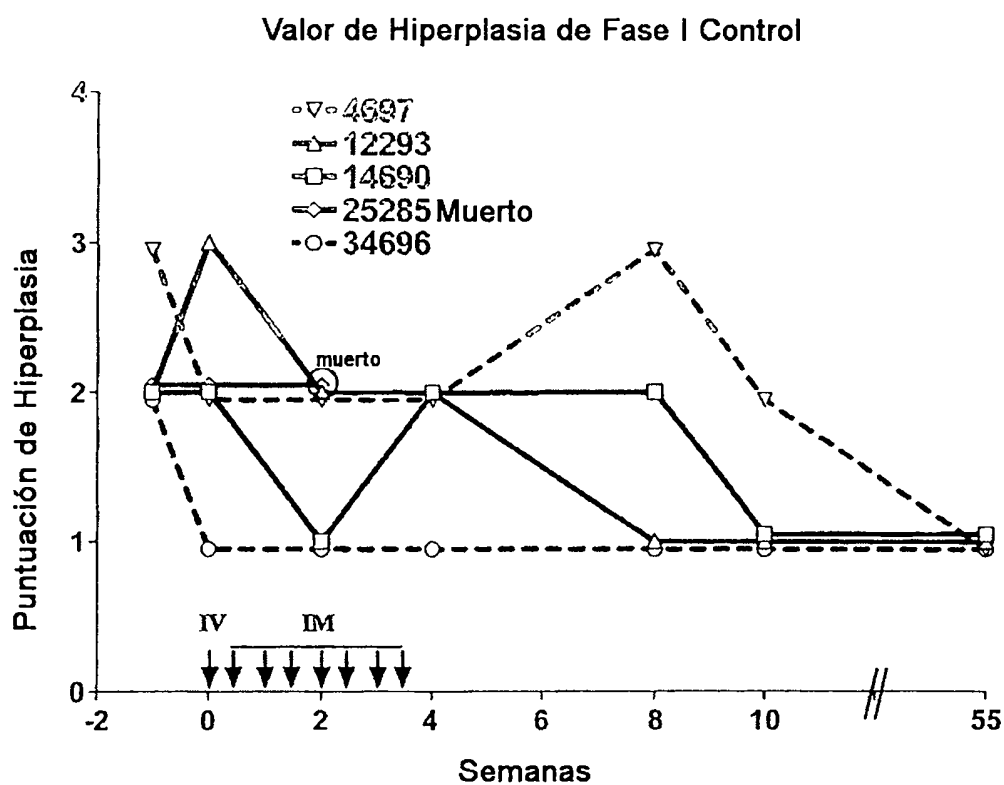


FIG. 9B

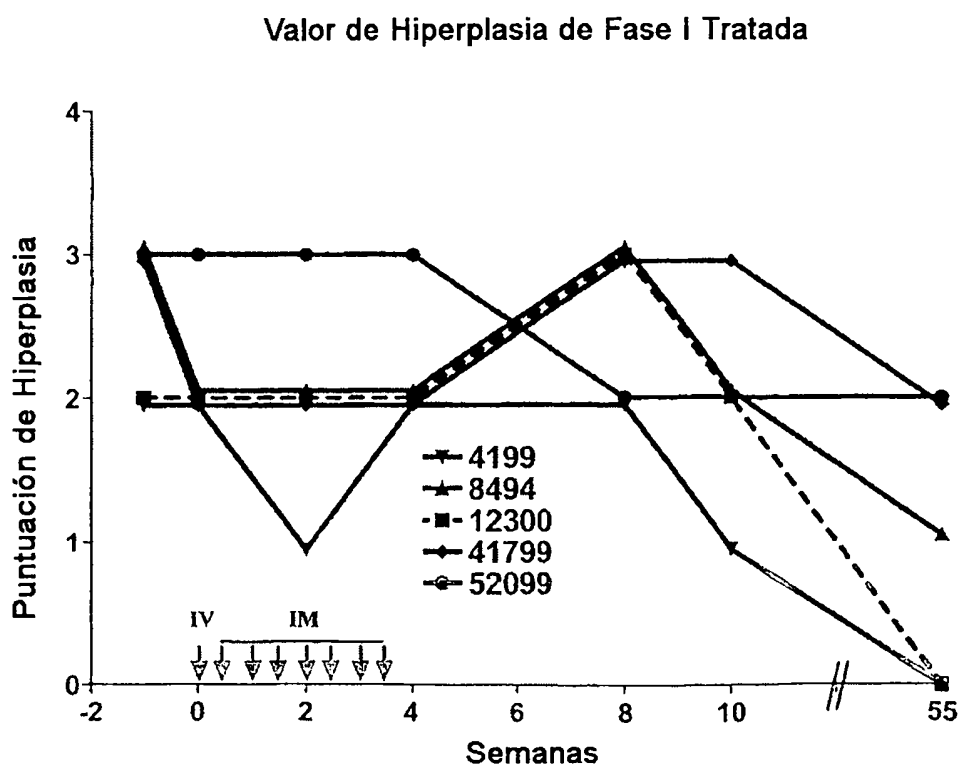


FIG. 9C

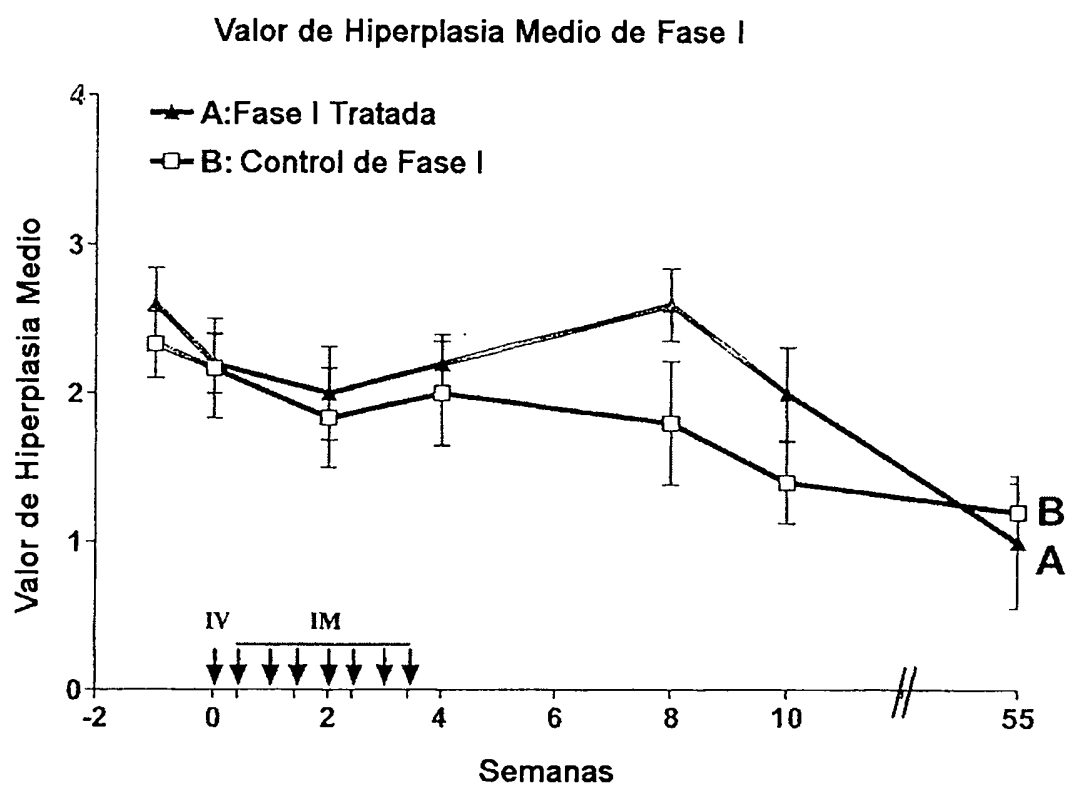


FIG. 9D

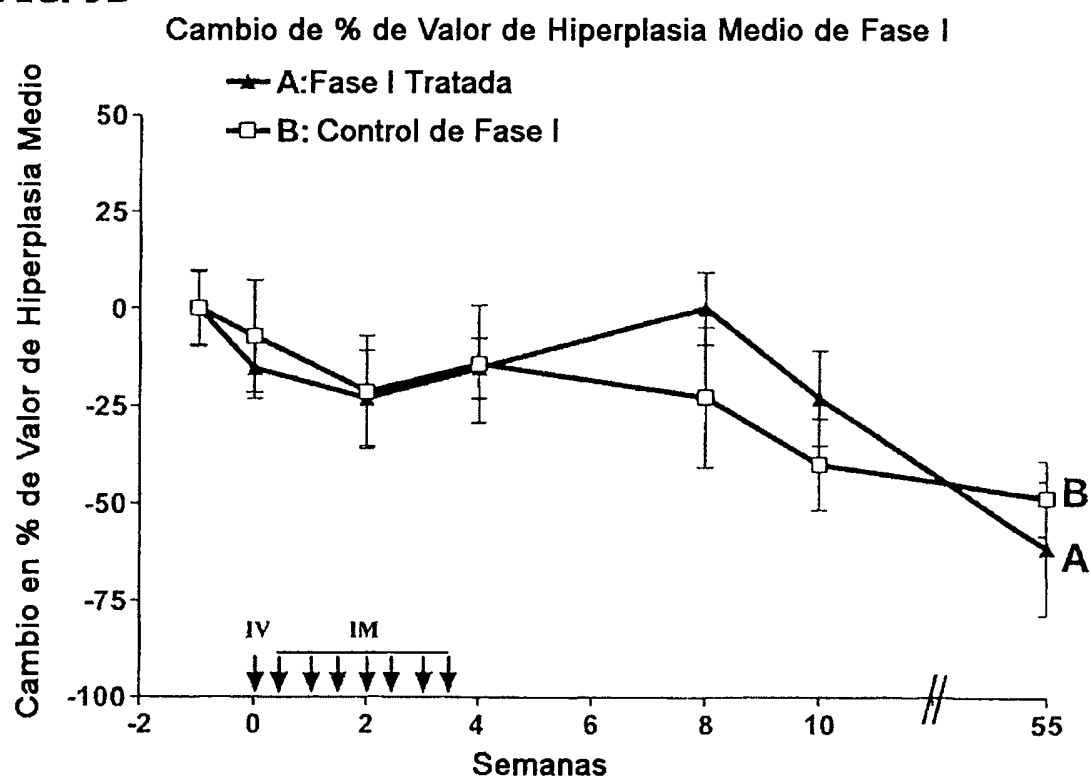


FIG. 10A

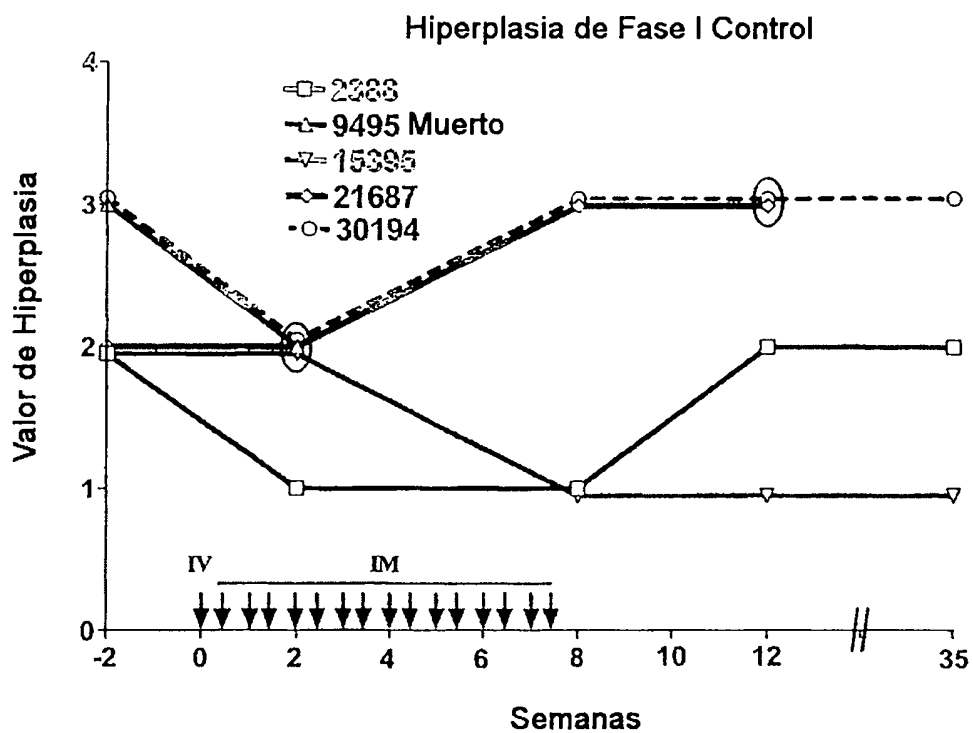


FIG. 10B

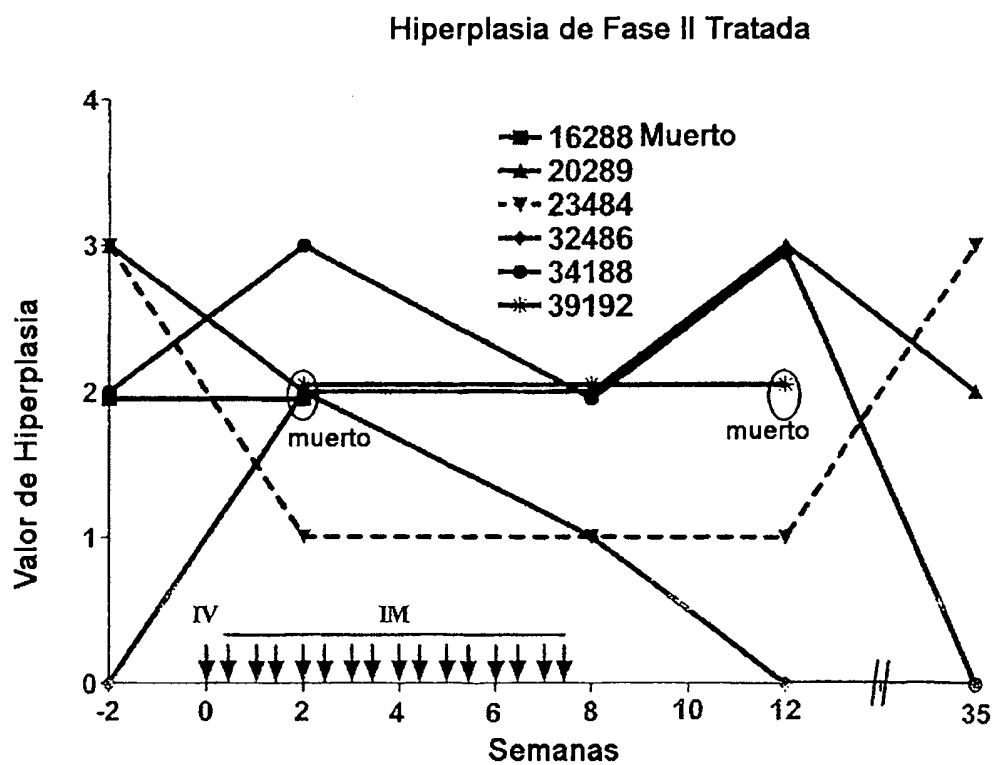


FIG. 10C

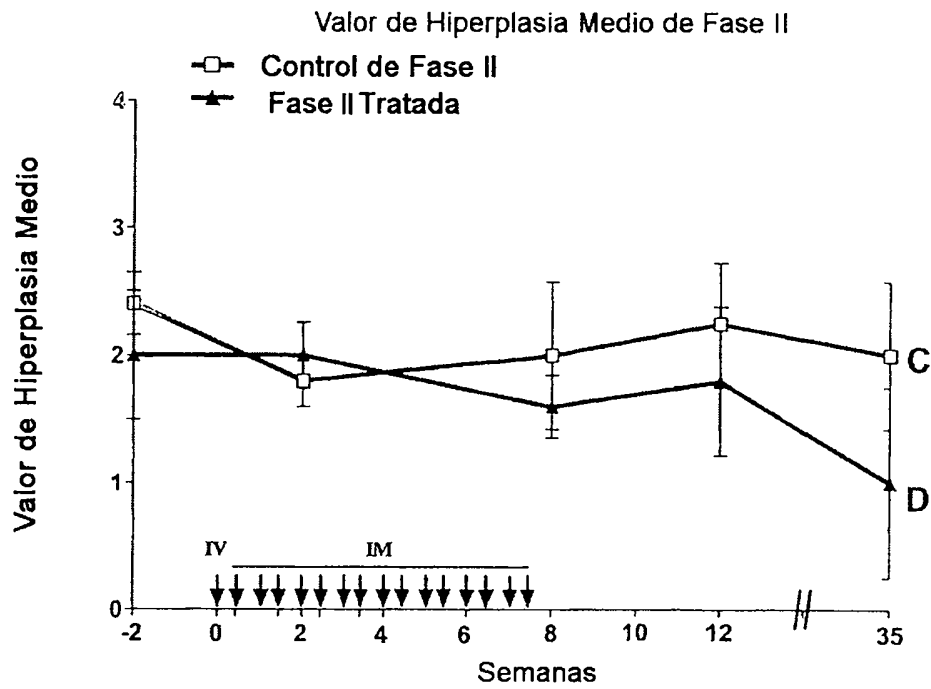


FIG. 10D

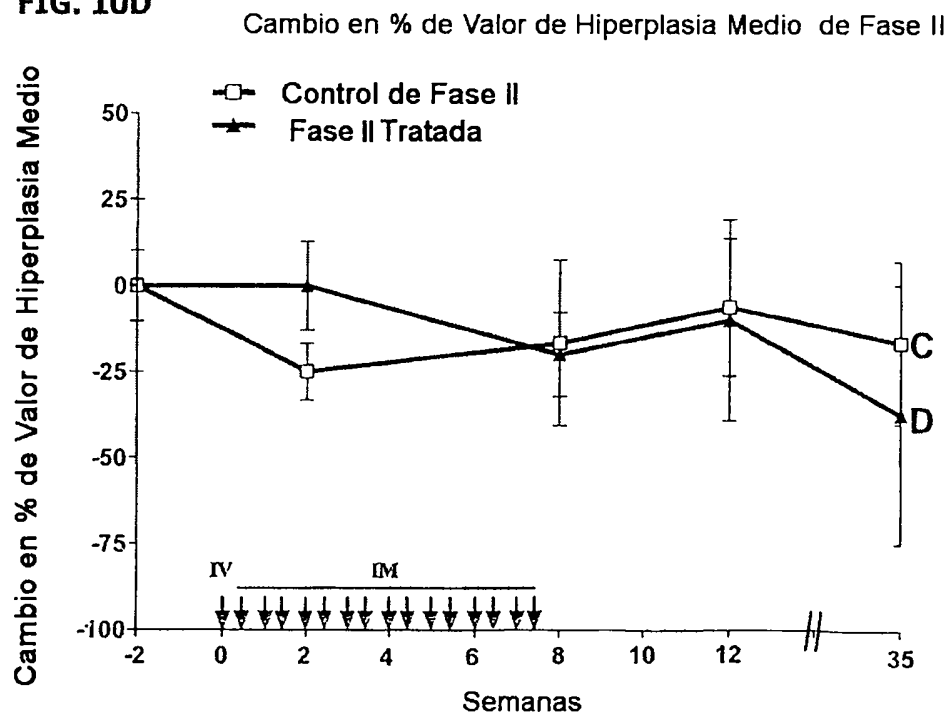


FIG. 11A

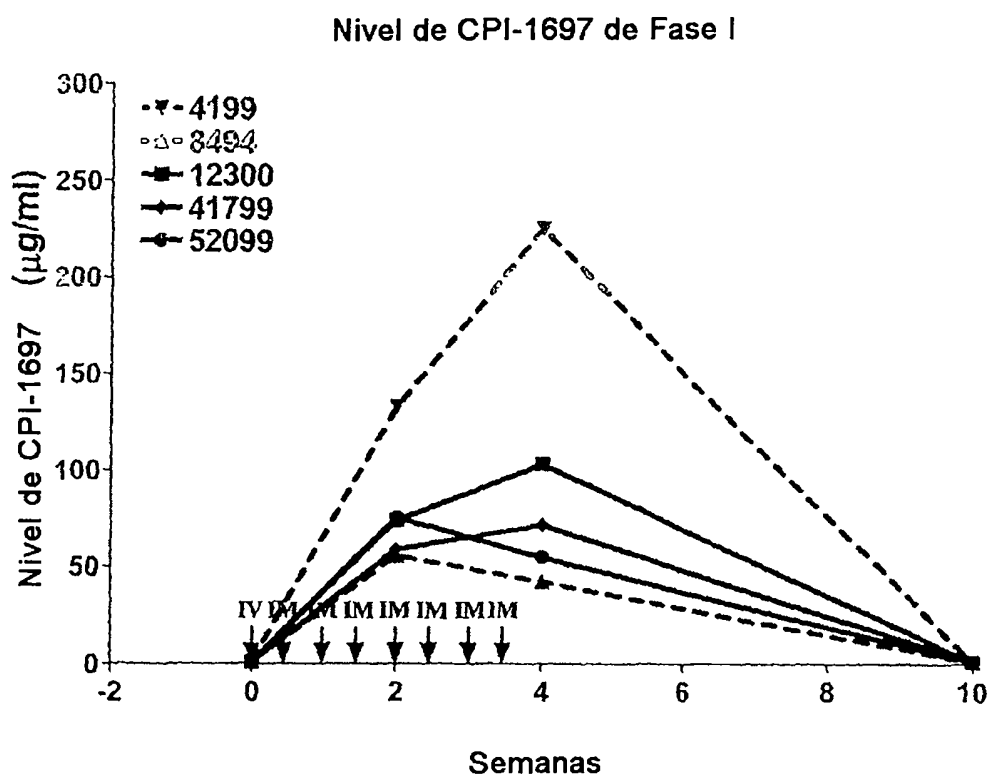


FIG. 11B

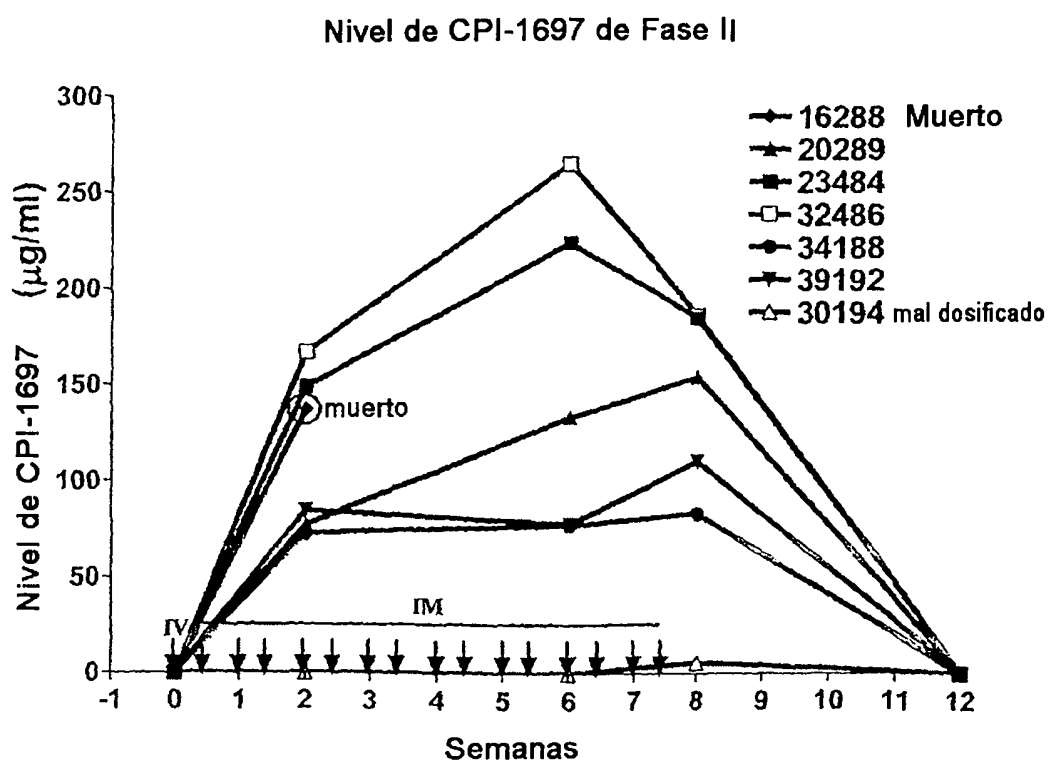


FIG. 12A

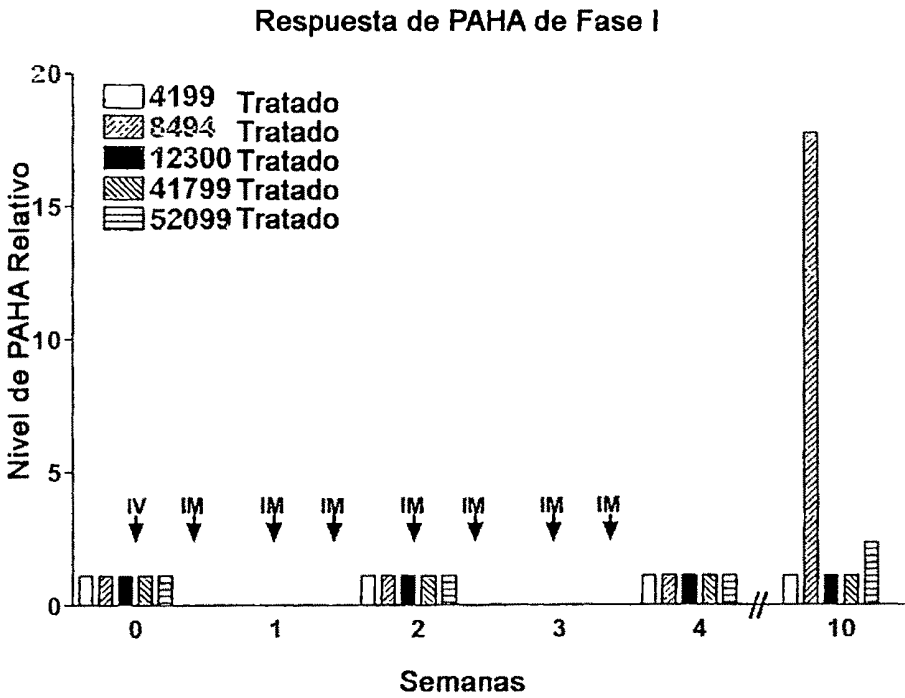


FIG. 12B

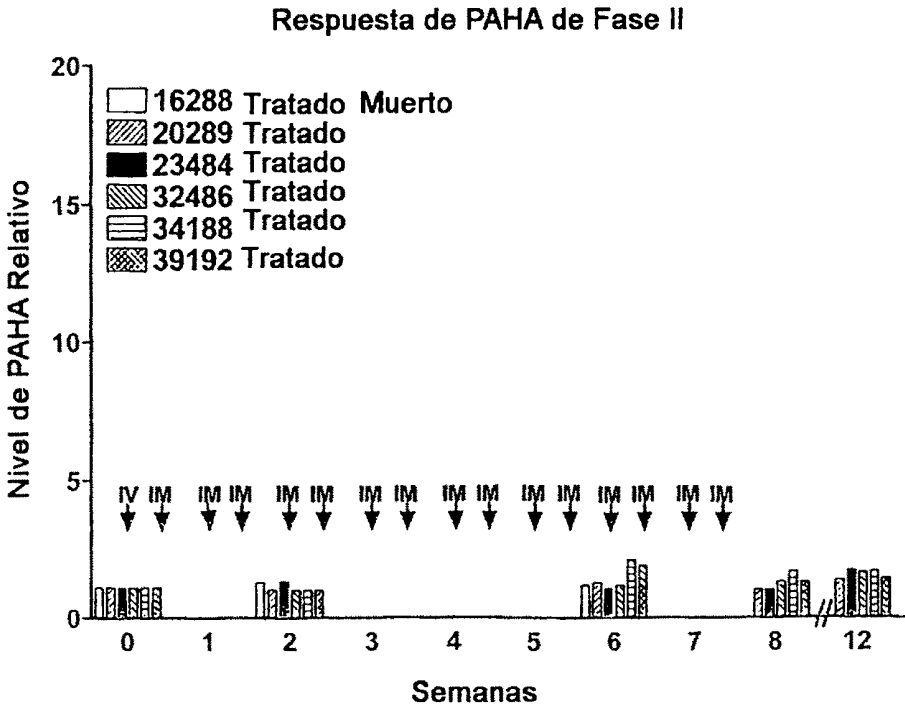


FIG. 13

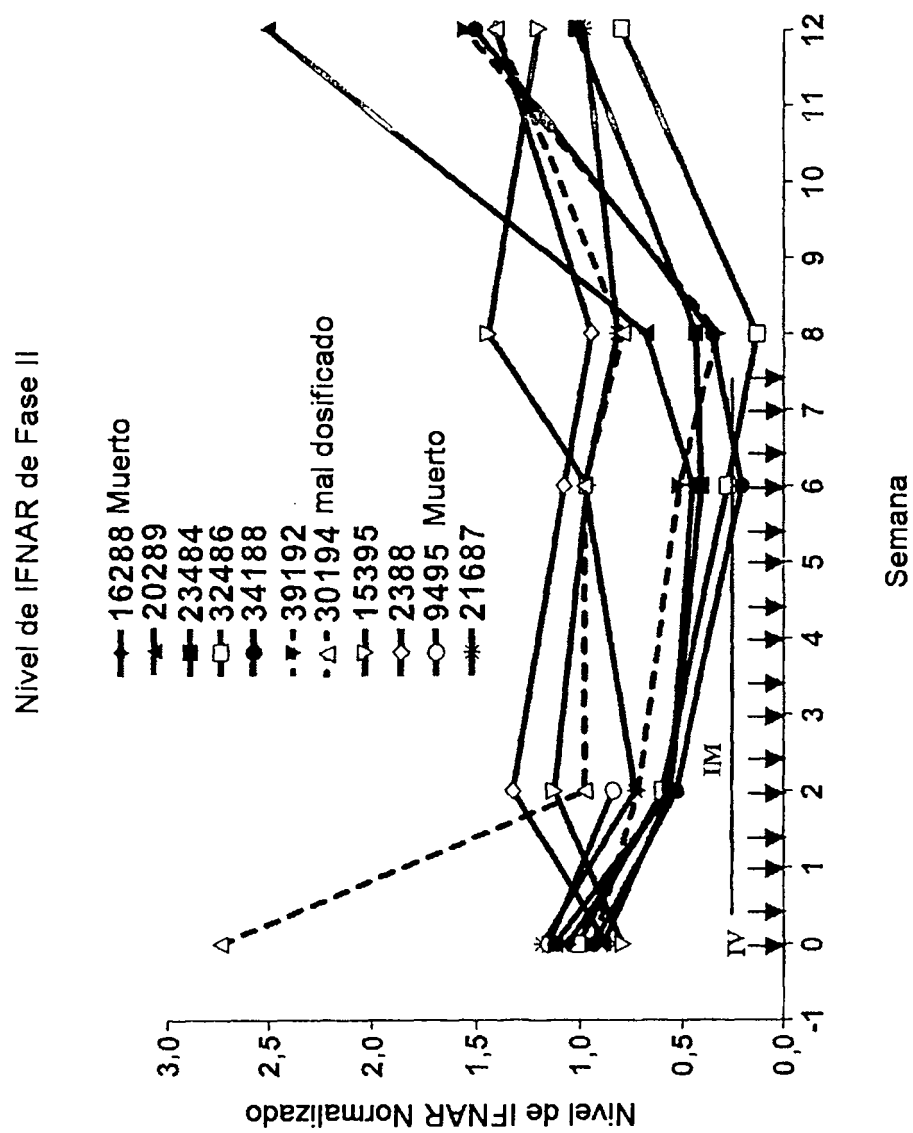


FIG. 14A

H3 – región variable de cadena pesada de CPI-1697

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAFSGFTLSTSGMGIGWVRQAPGKGLEWVA
HWWDDDKYYNPSLKSRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
NYYPYDAWFDYWGQGTLVTVS

FIG. 14B

K1 – región variable de la cadena ligera de CPI-1697

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSNSNHLHWYQQKPGKAPKLLIYRTSILASGVPSRF
 SGSGSGTSFTLTISSLQPEDFATYYCQQGSNIPFTFGQGTKVEIKR

ES 2 313 039 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Medarex, Inc.
Leslie B. Pickford
5 Christopher R. Bebbington
Geoffrey T. Yarranton
David King

<120> composiciones y procedimientos para la terapia de Enfermedad Inflamatoria Intestinal

10 <130> 2201663-w00

<140> PCT/US2004/012651

15 <141> 23-4-2004

<150> EE.UU. 60/465.155

<151> 23-4-2003

20 <160> 2

<170> PatentIn version 3.2

25 <210> 1
<211> 119
<212> PRT
30 <213> Artificial

<220>
<223> Secuencia humana y murina de compuesto

35 <400> 1

40 Glu val Gln Leu val Glu Ser Gly Gly Gly Leu val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser
 20 25 30

45 Gly Met Gly Ile Gly Trp val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

50 Trp val Ala His Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

55 Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr val Tyr
 65 70 75 80

 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

60 Ala Arg Asn Tyr Tyr Pro Tyr Asp Ala Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

65 Gly Thr Leu val Thr val Ser
 115

ES 2 313 039 T3

<210> 2

<211> 109

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia humana y murina de compuesto

10

<400> 2

15 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

20 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Asn Ser Asn
20 25 30

25 His Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

30 Ile Tyr Arg Thr Ser Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60

35 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

40 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Asn Ile Pro
85 90 95

45 Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

40

45

50

55

60

65