

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 377**

51 Int. Cl.:

A61K 51/10 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 103/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.11.2013 PCT/EP2013/072944**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.05.2014 WO14068114**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.11.2013 E 13788728 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.01.2017 EP 2914302**

54 Título: **Anticuerpo marcado radiactivamente y usos del mismo**

30 Prioridad:

05.11.2012 US 201261722256 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

03.07.2017

73 Titular/es:

**MORPHOSYS AG (100.0%)
Simmelweisstrasse 7
82152 Planegg, DE**

72 Inventor/es:

ESSLER, MARKUS

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 621 377 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

Anticuerpo marcado radiactivamente y usos del mismo

1. CAMPO

5 La presente descripción se refiere a un anticuerpo anti-CD38 marcado radiactivamente con un isótopo que emite partículas α , p. ej., ^{213}Bi (también conocido como "radioconjugado"). Un anticuerpo marcado radiactivamente de este tipo es útil en el tratamiento de cánceres, tales como mieloma múltiple y/o linfoma no Hodgkin.

2. ANTECEDENTES

10 El mieloma múltiple es una neoplasia maligna de linfocitos B caracterizada por la acumulación latente en la médula ósea de células plasmáticas secretoras con un bajo índice de proliferación y un tiempo de vida prolongado. En última instancia, la enfermedad ataca a los huesos y la médula ósea, lo que produce múltiples tumores y lesiones en todo el sistema esquelético.

15 Aproximadamente el 1% de todos los cánceres, y un poco más del 10% de todas las neoplasias hematológicas malignas, se pueden atribuir al mieloma múltiple (MM). La incidencia del MM aumenta con la edad de la población, siendo la edad media en el momento del diagnóstico de aproximadamente 61 años. Las terapias disponibles en la actualidad contra el mieloma múltiple incluyen la quimioterapia, el trasplante de células madre, Thalomid[®] (talidomida), Velcade[®] (bortezomib), Aredia[®] (pamidronato) y Zometa[®] (ácido zoledrónico). Los protocolos de tratamiento actuales, que incluyen una combinación de agentes quimioterapéuticos, tales como vincristina, BCNU, melfalán, ciclofosfamida, adriamicina y prednisona o dexametasona, producen una tasa de remisión completa de solo aproximadamente el 5%, y la supervivencia media es de aproximadamente 36-48 meses desde el momento del diagnóstico. Avances recientes que utilizan una quimioterapia de alta dosis seguida de trasplante autólogo de médula ósea o de células mononucleares de sangre periférica, han aumentado la tasa de remisión completa y la duración de la remisión. Sin embargo, la supervivencia global solo se ha prolongado ligeramente, y no se ha obtenido ninguna evidencia de cura. En última instancia, en los pacientes con MM se produce frecuentemente una recidiva, incluso manteniendo una terapia con interferón alfa (IFN- α), solo o en combinación con esteroides.

25 El linfoma no Hodgkin (LNH) es una amplia clasificación de linfomas, que son cánceres que se originan a partir del sistema linfático cuando los linfocitos (linfocitos B o linfocitos T) se vuelven malignos y proliferan de forma incontrolada para formar una masa tumoral. En total, el LNH incluye alrededor de 30 subtipos de linfomas diferentes, que incluyen el linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL) y el linfoma folicular (FL). La incidencia de LNH llegará a más de 140.000 en los principales mercados para el año 2019. Las opciones de tratamiento disponibles incluyen Rituxan/MabThera, combinaciones de los mismos, tales como R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona), R-CVP (Rituxan, ciclofosfamida, vincristina y prednisona) y quimioterapia. Además, después de la remisión o después de una recidiva, se puede considerar un trasplante de células madre hematopoyéticas. A pesar de las opciones de tratamiento actuales, las tasas de supervivencia dentro de los grupos de alto riesgo de LNH agresivo pueden ser tan bajas como del 30% en 5 años. Por lo tanto, sigue habiendo una gran necesidad insatisfecha de tratamientos eficaces y tratamientos de combinación.

35 CD38 es un ejemplo de un antígeno expresado en estas células plasmáticas malignas y otros linfocitos. Las funciones atribuidas a CD38 incluyen tanto la mediación con el receptor en los eventos de adhesión y señalización como la actividad (ecto)enzimática. Como ectoenzima, CD38 utiliza NAD⁺ como sustrato para la formación de ADP cíclico-ribosa (cADPR) y ADPR, pero también de nicotinamida y ácido nicotínico-fosfato de dinucleótido de adenina (NAADP). cADPR y NAADP han mostrado que actúan como segundos mensajeros para la movilización de Ca²⁺. Mediante la conversión de NAD⁺ a cADPR, CD38 regula la concentración extracelular de NAD⁺ y, por lo tanto, la supervivencia celular mediante la modulación de la muerte celular inducida por NAD (NCID). Además de la señalización a través de Ca²⁺, la señalización de CD38 se produce a través de la intercomunicación con complejos de antígeno-receptor sobre linfocitos T y B u otros tipos de complejos de receptor, por ejemplo, moléculas del MHC, y de esta manera está implicada en varias respuestas celulares, pero también en el cambio y la secreción de IgG.

40 Anticuerpos específicos de CD38 se describen en los documentos WO1999/62526 (Mayo Foundation); WO200206347 (Crucell Holland); US2002164788 (Jonathan Ellis); WO2005/103083 (MorphoSys AG), número de serie de EE.UU. 10/588.568, WO2006/125640 (MorphoSys AG), número de serie de EE.UU. 11/920.830 y WO2007/042309 (MorphoSys AG), número de serie de EE.UU. 12/089.806; WO2006099875 (Genmab), número de serie de EE.UU. 11/886.932 y WO08/047242 (Sanofi-Aventis), número de serie de EE.UU. 12/441.466

45 Los anticuerpos marcados con radioisótopos también se pueden usar terapéuticamente. Su uso se basa en dirigir con preferencia los radioisótopos hacia ciertas células y tejidos, pero no hacia otros. Por ejemplo, los radioisótopos de alta energía se pueden dirigir a un tejido en donde la alta energía tiene un efecto perjudicial o citotóxico sobre las células diana.

55 Es evidente que, a pesar de los recientes avances en el descubrimiento y el desarrollo de agentes contra el cáncer, muchas formas de cáncer que implican tumores que expresan CD38 todavía tienen un pronóstico malo. Por lo tanto,

existe una necesidad de métodos mejorados para el tratamiento de tales formas cancerígenas.

3. COMPENDIO

En un aspecto, la presente descripción se refiere a un anticuerpo anti-CD38 marcado radiactivamente con un isótopo que emite partículas α , p. ej., ^{213}Bi . Un anticuerpo marcado radiactivamente de este tipo (también denominado en este documento un "radioconjugado") es útil en el tratamiento de cánceres, tales como mieloma múltiple y/o linfoma no Hodgkin.

Los modelos *in vitro* e *in vivo* se consideran predictivos de cómo un determinado compuesto o una combinación de compuestos se comportará en los seres humanos. En este caso, el radioconjugado de un anticuerpo específico de CD38 y ^{213}Bi fue sometido a ensayo en líneas celulares de mieloma múltiple humano y en un modelo de ratón, y se identificó un efecto fuerte.

Un aspecto de la presente descripción se refiere a un radioconjugado que comprende un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o la secuencia SYMMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGfAY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGDNLRHYYVY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y un radioisótopo, por ejemplo, un radioisótopo que emite partículas α , p. ej., ^{213}Bi . En ciertos aspectos, el radioconjugado es para uso en el tratamiento de mieloma múltiple y/o linfoma no Hodgkin.

En una realización particular, la región HCDR1 de un radioconjugado de este tipo comprende SYMMN (SEQ ID NO: 14). En otra realización particular, el radioisótopo comprende un isótopo que emite partículas α . En aún otra realización particular, un radioconjugado de este tipo comprende, por ejemplo, yodo-131, itrio-90, lutecio-177, cobre-67, astato-211, bismuto-212, bismuto-213 y actinio-225. En una realización específica, el radioisótopo es bismuto-213.

En una realización específica, el radioconjugado puede comprender una región de anticuerpo que comprende una cadena pesada variable con la secuencia:

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGDPSNTYY
ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGfAYWGQGLTLTVSS
(SEQ ID NO: 10),

y una cadena ligera variable con la secuencia:

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYWYQQKPGQAPVLVIYGDSKRPSGIPERFS
GSNSGNTATLTISGTQAEDADYYCQTYTGGASLVFGGGTKLTVLGG (SEQ ID NO: 11).

En ciertas realizaciones, el radioconjugado puede comprender un anticuerpo que comprende una región Fc, por ejemplo, una región Fc de IgG1. En ciertas realizaciones adicionales, el radioconjugado puede comprender una región Fc modificada, por ejemplo, una región Fc modificada en la que la modificación incrementa la actividad ADCC y/o CDC.

En otro aspecto, en este documento se presentan métodos que comprenden la administración de un radioconjugado descrito en este documento. Por ejemplo, en una realización, en este documento se presenta un radioconjugado para uso en un método para tratar el mieloma múltiple en un individuo que lo requiere, que comprende la administración de un radioconjugado descrito en este documento. En una realización particular, un método de este tipo puede comprender la administración de un radioconjugado descrito en este documento, en donde el radioconjugado comprende un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o con la secuencia SYMMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGfAY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGDNLRHYYVY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y ^{213}Bi .

En una realización específica, tal método puede comprender la administración de un radioconjugado, en donde la región HCDR1 del radioconjugado comprende SYMMN (SEQ ID NO: 14). En otra realización específica, tal método puede comprender la administración de un radioconjugado que comprende una región de anticuerpo que comprende una cadena pesada variable con la secuencia

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGDPSTNTYY
 ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFAFWGQGLVTVSS
 (SEQ ID NO: 10)

y una cadena ligera variable con la secuencia

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYWYQKPGQAPVLVIYGDSKRPSGIPERFS
 GSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQTYTGGASLVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 11).

5 En aún otra realización, en este documento se presenta un radioconjugado para uso en un método para tratar el
 linfoma no Hodgkin en un individuo que lo requiere, que comprende la administración de un radioconjugado de
 acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores. En una realización particular, un método de este tipo
 puede comprender la administración de un radioconjugado que comprende un anticuerpo específico de CD38 que
 comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o con la secuencia SYMMN (SEQ
 ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSTNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con
 10 la secuencia DLPLVYTGFAW (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGDNLRHYYVY (SEQ ID NO:
 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia
 QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y ^{213}Bi .

15 En otra realización específica, un método de este tipo puede comprender la administración de un radioconjugado en
 donde la región HCDR1 del radioconjugado comprende SYMMN (SEQ ID NO: 14). En aún otra realización
 específica, un método de este tipo puede comprender la administración de un radioconjugado que comprende un
 anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1)
 o con la secuencia SYMMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSTNTYYADSVKG (SEQ
 ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGFAW (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la
 secuencia SGDNLRHYYVY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una
 20 región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y ^{213}Bi .

4. DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **Figura 1** muestra la secuencia de aminoácidos de MOR202.

25 La **Figura 2A-2B** muestra la unión de ^{213}Bi -anti-CD38-MAb a líneas celulares de mieloma y la correlación de la
 unión de ^{213}Bi -anti-CD38-MAb y la citotoxicidad. Figura 2A: Porcentajes de unión de ^{213}Bi -anti-CD38-MAb a las
 líneas celulares de mieloma múltiple OPM2, RPMI8226 y ARH77 tal y como se cuantifican por la actividad de
 ^{213}Bi unido en el sedimento celular. Figura 2B: Evaluación de la citotoxicidad de ^{213}Bi -anti-CD38-MAb sobre
 células de mieloma OPM2, RPMI y ARH77, tal y como se cuantifica por el ensayo de proliferación celular
 CellTiter96[®], 48 h después del inicio del tratamiento.

30 La **Figura 3** muestra la cuantificación de la muerte celular después del tratamiento de las células OPM2 con
 ^{213}Bi -anti-CD38-MAb (ensayo con azul de tripán).

La **Figura 4** muestra la cuantificación de la muerte celular después del tratamiento de las células OPM2 con
 ^{213}Bi -anti-CD38-MAb (ensayo con azul de tripán).

La **Figura 5** muestra la cuantificación de la muerte celular después del tratamiento de células de MM con ^{213}Bi -
 anti-CD38-MAb (ensayo con azul de tripán).

35 **Figura 6.** Cuantificación de roturas en la cadena doble de ADN inducidas con ^{213}Bi -anti-CD38-MAb. Las células
 de mieloma múltiple OPM2 o ARH77 se trataron con ^{213}Bi -anti-CD38-MAb (1,48 MBq/ml) durante 3 h a 4°C
 para evitar la reparación del ADN. Posteriormente, las células se lavaron con PBS y se incubaron a 37°C en
 medio de nuevo aporte. En los puntos de tiempo indicados, las células se tiñeron con γH2AX y las señales
 (focos por célula) se cuantificaron utilizando el programa informático Definiens[®].

40 **Figura 7A-7C.** Detención del ciclo celular, inducida con ^{213}Bi -anti-CD38-MAb. Los porcentajes de células OPM2
 en la fase G1 (Figura 7A) y la fase G2 (Figura 7B) del ciclo celular se determinaron en los puntos de tiempo
 indicados después del tratamiento con inmunocombinados de ^{213}Bi -anti-CD38 (1,48 MBq/ml, 3 h, 37°C). Se
 muestran las medias de tres experimentos independientes \pm SD. En la Figura 7C, se representan los
 histogramas correspondientes de un experimento representativo.

45 **Figura 8A-8D.** Mecanismos de señal que desencadenan la detención del ciclo celular y la apoptosis inducidas
 con ^{213}Bi -anti-CD38-MAb. Contenido de ADN (Figura 8A) y fosforilación de la histona H3 (Figura 8B) en células
 OPM2, 120 h después del tratamiento con ^{213}Bi -anti-CD38-MAb (0,74 MBq/ml) o PBS (control), tal y como se
 determinó por citometría de flujo. Expresión de proteínas que activan el punto de control principal G2/M y pro-

apoptóticas (Figura 8C), así como la activación de la caspasa-3 y la escisión de PARP (Figura 8D) en diferentes puntos temporales después de la incubación de las células OPM2 con ^{213}Bi -anti-CD38-MAb (0,74 MBq/ml), tal y como se determinó por inmunotransferencia.

5 **Figura 9.** Estudio de tratamiento preclínico. Los ratones se trataron seis veces con 1,85 MBq de ^{213}Bi -anti-CD38-MAb, ^{213}Bi -DTPA inespecífico o PBS (control) entre los días 25 y 42 después de la inoculación de las células de mieloma múltiple OPM2, tal como se indica.

Figura 10. Gráfico de Kaplan-Meyer que muestra la supervivencia de los ratones después del tratamiento con PBS (control), ^{213}Bi -DTPA inespecífico y ^{213}Bi -anti-CD38-MAb.

10 **Figura 11.** Formación de imágenes por bioluminiscencia del desarrollo tumoral los días 34, 47 y 59 después de la inoculación de células tumorales en animales de control y animales tratados con ^{213}Bi -anti-CD38-MAb.

Figura 12. Pesos del tejido tumoral, dos semanas después del último ciclo de tratamiento en ratones tratados con PBS (control) y ^{213}Bi -anti-CD38-MAb.

Figura 13A-13C. Evaluación de la apoptosis y la necrosis intratumoral. Dos semanas después de la terapia, se determinaron la apoptosis y la necrosis intratumoral sobre cortes de tejido tumoral en parafina.

15 **Figura 13A:** Detección inmunohistoquímica de células apoptóticas mediante tinción de la caspasa-3 activa.

Figura 13B: Cuantificación de las células apoptóticas.

Figura 13C: Células necróticas en secciones de tejido tumoral teñido con H&E utilizando el programa informático TissueMap de Definiens[®].

5. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

20 El término "anticuerpo" significa anticuerpos monoclonales, incluyendo cualquier isotipo tal como IgG, IgM, IgA, IgD e IgE. Un anticuerpo IgG está compuesto por dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas que están unidas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada y ligera contiene una región constante y una región variable. Cada región variable contiene tres segmentos denominados "regiones determinantes de complementariedad" ("CDRs") o "regiones hipervariables", que son principalmente responsables de unir un epítipo de un antígeno. Se denominan CDR1, CDR2 y CDR3, numeradas secuencialmente desde el extremo N-terminal.

25 Las porciones más conservadas de las regiones variables fuera de las CDRs, se denominan "regiones estructurales". Un "fragmento de anticuerpo" se refiere a un fragmento Fv, scFv, dsFv, Fab, Fab', F(ab')₂, o a otro fragmento que contiene al menos una cadena pesada variable o ligera variable, conteniendo cada una CDRs y regiones estructurales.

30 "VH" se refiere a la región variable de una cadena pesada de inmunoglobulina de un anticuerpo o a un fragmento de anticuerpo. "VL" se refiere a la región variable de una cadena ligera de inmunoglobulina de un anticuerpo o a un fragmento de anticuerpo.

35 Las "CDRs" en el presente documento están definidas por Chothia et al., Kabat et al. o por una convención numérica interna. Véase, Chothia C, Lesk AM. (1987) Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. J Mol Biol., 196(4):901-17. Véase, Kabat E.A, Wu T.T., Perry H.M., Gottesman K.S. y Foeller C. (1991). Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5ª ed., NIH Publication no. 91-3242, US Dept. of Health and Human Services, Washington, DC.

El término "CD38" se refiere a la proteína conocida como CD38, que tiene los siguientes sinónimos: ADP-ribosil ciclasa 1, cADPR hidrolasa 1, ADP cíclico-ribosa hidrolasa 1, T10.

40 La CD38 humana tiene la secuencia de aminoácidos:

MANCESPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVLSILVLILVVVLAVVVPRWRQQWSGPGTTKRFPET
VLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKIL
LWSRIKDLAQFTQVQRDMFTLEDTLLGYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDCSNN
PVSVFWKTVSRFAEAAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQTLEAWVI
HGGREDSRDLCQDPTIKELESIIKRNIFQFCKNIYRDPKFLQCVKNPEDSSCTSEI (SEQ ID
NO: 7).

"MOR202" es un anticuerpo anti-CD38 cuya secuencia de aminoácidos se proporciona en la Figura 1. "MOR202" y "MOR03087" se utilizan como sinónimos para describir el anticuerpo mostrado en la Figura 1.

Una secuencia de ADN representativa que codifica el dominio pesado variable de MOR202 es:

CAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGGCAACCGGGCGGCAGCCTGCGTC
 TGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTTACCTTTTCTTCTTATTATATGAATTGGGTGCGCCAAG
 CCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGGTATCTCTGGTGATCCTAGCAATACCTAT
 TATGCGGATAGCGTGAAAGGCCGTTTTACCATTTACGTGATAATTCGAAAAACACCCT
 GTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTG
 ATCTTCCTCTTGTTTATACTGGTTTTGCTTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTA
 GCTCA (SEQ ID NO: 12)

Una secuencia de ADN representativa que codifica el dominio ligero variable de MOR202 es:

GATATCGAACTGACCCAGCCGCCTTCAGTGAGCGTTGCACCAGGTCAGACCGCGCGTAT
 CTCGTGTAGCGGCGATAATCTTCGTCATTATTATGTTTATTGGTACCAGCAGAAACCCG
 GGCAGGCGCCAGTTCTTGTGATTTATGGTGATTCTAAGCGTCCCTCAGGCATCCCGGAA
 CGCTTTAGCGGATCCAACAGCGGCAACACCGCGACCCTGACCATTAGCGGCACTCAGG
 CGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGACTTATACTGGTGGTGCTTCTCTTGTGTTT
 GGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTTCTTGGCCAG (SEQ ID NO: 13).

5 Una "combinación" significa más de un elemento.

Un "radioconjugado" es un anticuerpo que está marcado con un radioisótopo. Un radioconjugado se considera una combinación de un anticuerpo y un radioisótopo.

10 Los términos "radionucleidos" y "radioisótopos" se utilizan indistintamente para referirse a átomos con un núcleo inestable, que es un núcleo que se caracteriza por un exceso de energía que está disponible para ser entregada, ya sea a una partícula de radiación creada recientemente dentro del núcleo, o bien a un electrón atómico. El radioisótopo, en este proceso, se somete a una desintegración radiactiva. Los radioisótopos se pueden producir de forma natural, pero también se pueden producir artificialmente. Los radioisótopos varían en función de sus características que incluyen la semivida, las características de emisión de energía y el tipo de desintegración. Esto permite seleccionar los radioisótopos que tienen la mezcla de características deseadas, adecuadas para un uso diagnóstico y/o terapéutico. Por ejemplo, los emisores de gamma se usan generalmente para el diagnóstico y los emisores de beta se utilizan generalmente de forma terapéutica. Sin embargo, algunos radioisótopos son ambos, emisores de gamma y emisores de beta y, por lo tanto, pueden ser adecuados para ambos usos, alterando la cantidad de radiactividad utilizada (actividad total y/o específica).

20 Los radioisótopos utilizados para marcar radiactivamente incluyen, pero no se limitan a, carbono-11, nitrógeno-13, oxígeno-15, flúor-18, cobre-67, galio-67, galio-68, criptón-81m, rubidio-82, tecnecio-99m, indio-11, yodo-123, yodo-124, yodo-125, yodo-131, xenon-133, talio-201, circonio-89, cobre-64, itrio-90, tecnecio-99m, yodo-123, yodo-124 y yodo-125, lutecio-177, At-211, plomo-212, bismuto-212, bismuto-213 y actinio-225. Estos radioisótopos, así como sus características (p. ej., semivida, emisión, etc.) son bien conocidos en la técnica, ya que hay métodos para prepararlos y marcar proteínas con los mismos. Por lo tanto, se puede hacer una selección entre los radioisótopos disponibles para seleccionar el radioisótopo con la combinación de características apropiadas, basándose en la aplicación particular.

30 Los radioisótopos que se pueden utilizar para dañar células, tales como células cancerosas, son emisores de alta energía. Por ejemplo, se selecciona un radioisótopo de alta energía y se dirige a las células cancerosas. El radioisótopo de alta energía actúa preferentemente sobre un intervalo limitado, de manera que los efectos citotóxicos se localizan en las células diana. De esta manera, la radioterapia se administra de una manera más localizada, para disminuir las lesiones en las células no cancerosas. En ciertas realizaciones, el radioisótopo adecuado es un radioisótopo emisor de alfa o beta.

35 En ciertas realizaciones, el radioisótopo adecuado para uso como radioconjugado para dañar células, se selecciona a partir del grupo que consiste en yodo-131, itrio-90, lutecio-177, cobre-67, astato-211, bismuto-212, bismuto-213 y actinio-225. En ciertas realizaciones, el radioisótopo es bismuto-213.

40 El bismuto es un elemento con el símbolo Bi y número atómico 83. El isótopo radiactivo, bismuto-213 se puede producir mediante el bombardeo de radio con fotones con radiación de frenado desde un acelerador lineal de partículas. En 1997, un conjugado de anticuerpo con bismuto-213, que tenía una semivida de 45 minutos y se desintegraba con la emisión de una partícula alfa, se utilizó para el tratamiento de pacientes con leucemia. Este isótopo también se ha experimentado en el tratamiento del cáncer, por ejemplo, en el programa de terapia dirigida con alfa (TAT).

La descripción contempla que el anticuerpo o un fragmento de anticuerpo se puede marcar con un radioisótopo utilizando cualquier método y proceso químico disponible. Una asociación o conjugación del radioisótopo puede ser directa o a través de un agente de acoplamiento o enlazador, por ejemplo, un agente quelante.

5 Una composición farmacéutica incluye un agente activo, por ejemplo, un anticuerpo para uso terapéutico en seres humanos. Una composición farmacéutica puede incluir vehículos o excipientes aceptables.

"Administrado" o "administración" incluye pero no se limita a la entrega a través de una forma inyectable, tal como, por ejemplo, una vía intravenosa, intramuscular, intradérmica o subcutánea o una vía mucosa, por ejemplo, tal como una pulverización nasal o un aerosol para inhalación o como una solución ingerible, una cápsula o un comprimido.

10 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto o una combinación, se refiere a una cantidad suficiente para curar, aliviar o detener parcialmente las manifestaciones clínicas de una enfermedad o un trastorno dado y sus complicaciones. La cantidad que es eficaz para un fin terapéutico particular, dependerá de la gravedad de la enfermedad o la lesión, así como del peso y del estado general del sujeto. Se entenderá que la determinación de una dosificación apropiada se puede lograr utilizando una experimentación rutinaria, construyendo una matriz de valores y sometiendo a ensayo diferentes puntos en la matriz, todo ello está dentro de los conocimientos ordinarios de un médico capacitado o un científico clínico.

6. REALIZACIONES

Un aspecto de la presente descripción comprende un radioconjugado de un anticuerpo específico de CD38 y un radioisótopo, para uso en el tratamiento de mieloma múltiple y/o linfoma no Hodgkin.

20 En realizaciones, el radioconjugado comprende un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o SYYMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVK (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGFA (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGNLNRHYYV (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y un radioisótopo para el tratamiento del mieloma múltiple y/o el linfoma no Hodgkin.

25 En ciertas realizaciones, el radioconjugado comprende un isótopo que muestra un intervalo corto en el tejido, p. ej., un intervalo de aproximadamente 40-100 μm , combinado con una energía elevada, p. ej., aproximadamente 4-9 MeV. En realizaciones particulares, un isótopo de este tipo es un isótopo que emite partículas α , por ejemplo, ^{213}Bi o ^{225}Ac .

30 En realizaciones, el radioconjugado comprende un radioisótopo seleccionado a partir de yodo-131, itrio-90, lutecio-177, cobre-67, astato-211, bismuto-212, bismuto-213 y actinio-225.

En una realización, el radioisótopo es bismuto-213.

35 En realizaciones, el anticuerpo específico de CD38 comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o con la secuencia SYYMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVK (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGFA (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGNLNRHYYV (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y el radioisótopo es bismuto-213.

En un aspecto, el radioconjugado es para uso en el tratamiento de mieloma múltiple y/o linfoma no Hodgkin.

40 Un aspecto se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden el radioconjugado. En realizaciones, la composición comprende un vehículo aceptable. En realizaciones, la composición se administra en una cantidad eficaz.

45 Un aspecto se refiere a un radioconjugado que comprende un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o con la secuencia SYYMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVK (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGFA (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGNLNRHYYV (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y ^{213}Bi para el tratamiento del mieloma múltiple y/o el linfoma no Hodgkin.

En una realización adicional, el anticuerpo comprende una cadena pesada variable con la secuencia

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGDPSNTYY
ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFAIWGQGLTVTVSS
(SEQ ID NO: 10),

y una cadena ligera variable con la secuencia:

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYQKPGQAPVLVIYGDSKRPSGIPERFS
GSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQTYTGGASLVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 11).

5 En realizaciones, el anticuerpo tiene una región Fc de IgG1. En realizaciones, el anticuerpo comprende una región Fc modificada, en donde dicha modificación mejora la actividad ADCC.

10 En otro aspecto, el radioconjugado de un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o con la secuencia SYMMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGFAIY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGNLNRHYYVY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia de QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y ²¹³Bi, es capaz de mediar en la destrucción de células OPM2 que expresan CD38 con una eficacia que es al menos dos veces, tres veces, cuatro veces o cinco veces mejor que ²¹³Bi solo.

15 En otro aspecto, el radioconjugado de un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o con la secuencia SYMMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGFAIY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGNLNRHYYVY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y ²¹³Bi, inhibe el crecimiento tumoral en un modelo de mieloma múltiple en ratón.

20 Otro aspecto comprende un radioconjugado para uso en un método para tratar el mieloma múltiple y/o el linfoma no Hodgkin en un individuo que lo requiere, en donde el método comprende la administración de un radioconjugado que comprende un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o con la secuencia SYMMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGFAIY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGNLNRHYYVY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y ²¹³Bi, a un individuo que tiene mieloma múltiple o linfoma no Hodgkin.

7. EJEMPLOS

Ejemplo 1: Expresión de CD38 en la superficie de diversas líneas celulares

Las líneas celulares de la Tabla 1 se sometieron a ensayo para determinar los niveles de expresión de CD38.

30

Tabla 1

Línea celular	Suministrada por:	Cultivada en:
AMO-1: línea celular de mieloma múltiple	DSMZ n° ACC 538	RPMI1640, con L-Glutamina, (PAN Biotech GmbH, n° de Cat.: medio P04-16500)
LP1: línea celular de mieloma múltiple	DSMZ n° ACC 41	Medio Dulbecco modificado por Iscove (IMDM) con GlutaMAX® (Invitrogen, n° de Cat.: 31980-048)
NCI-H929: línea celular de mieloma múltiple	DSMZ n° ACC 163	RPMI1640 (igual que AMO-1), complementado con Napiruvato 1 mM, β-mercaptoetanol 50 μM
RPMI8226: línea celular de mieloma múltiple	DSMZ n° ACC 402	RPMI1640 (igual que AMO-1)
OPM-2: línea celular de mieloma múltiple	DSMZ n° ACC 50	RPMI1640 (igual que AMO-1)
Plasmocitoma, células plasmáticas malignas	Hospital "Klinikum rechts der Isar"	RPMI1640 (igual que AMO-1)

Las muestras de médula ósea (4-10 ml de aspirado) procedentes de pacientes con mieloma múltiple y las muestras de plasmacitoma tumoral extramedular se obtuvieron después del consentimiento informado a partir del Hospital "Klinikum rechts der Isar" ("Krdl") (Múnich, Alemania). Las muestras se sometieron a centrifugación, y se consiguió un mayor enriquecimiento de las células plasmáticas a través de una clasificación de las células activadas de forma magnética.

Las células se tiñeron con un anticuerpo CD38-PE de QuantiBRITE® marcado directamente (Becton Dickinson GmbH, Clon HB7, nº de cat. 342371), que es específico de CD38. Los "anticuerpos unidos por célula" (ABCs) se determinaron utilizando el sistema basado en citometría de flujo de QuantiBRITE®, que mide la media geométrica (GeoMean) por célula. La conversión de la GeoMean medida con la cantidad correlativa de ABC por célula se realizó con el programa informático GraphPad PRISM®. Los valores de ABC se considera que se correlacionan con el número de moléculas de CD38 por célula, ya que CD38-PE de QuantiBRITE® es portador de una molécula de PE por anticuerpo. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

Línea celular	Número absoluto de ABC (expresión de CD38)
AMO-1	25.000
LP-1	125.000
NCI-H929	195.000
RPMI-8226	670.000
OPM-2	38.000
Plasmocitoma	30.000

15 **Ejemplo 2:** Unión de conjugado ^{213}Bi -anti-CD38-MAb con líneas celulares de MM

Se cultivaron líneas celulares de mieloma OPM2, ARH77, RPMI8226, U266 y células madre mesenquimales de médula ósea (BM-MSC) (proporcionadas por T. Dechow, Technische Universität München) en medio RPMI 1640 (Biochrom, Berlín, Alemania) complementado con suero bovino fetal al 10%, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina y 1% de L-glutamina (todos de Biochrom). Células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC; PromoCell, Heidelberg, Alemania) se mantuvieron en medio de crecimiento de células endoteliales (PromoCell, Heidelberg, Alemania). Todas las células se cultivaron a 37°C en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂.

Se aislaron células de mieloma primario a partir de la médula ósea de dos pacientes que padecían mieloma múltiple. La solución Histopaque-1077 en gradiente de ficol se cubrió con médula ósea y se centrifugó a 445 g durante 35 min (20°C). A partir de la interfase que contenía células mononucleares, se aislaron magnéticamente las células de mieloma usando micropelotas anti-CD138, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Alemania). Se extrajeron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) a partir de la sangre total, de acuerdo con el protocolo para la extracción de células de mieloma primario.

Se sembraron 3×10^5 células (en 200 µl de medio de cultivo) en cada pocillo (recubiertos con poli-D-lisina) de una placa de 96 pocillos y se incubaron durante 1 h a 37°C. Posteriormente, las células se incubaron con el anti-CD38-MAb MOR03087 (2 µg/ml) durante otra hora a 37°C y se lavaron tres veces con PBS/10% de FCS sobre hielo. Las células se fijaron después durante 10 minutos en 4% de formaldehído (en PBS) y se permeabilizaron durante 10 min con 1% de Triton-X100 (en TBS). Después de lavar (tres veces con PBS) y bloquear durante 1 h con PBS/10% de FCS, las células se incubaron con un anticuerpo anti-IgG humano conjugado con HRP (1:5000 en TBS/10% de FCS). Las células se lavaron tres veces con PBS y después se incubaron con sustrato de TMB lento (Thermo Scientific Pierce, EE.UU.) durante 1 h. La reacción de color se detuvo con H₂SO₄ 0,5 M y la absorbancia se midió a 450 nm.

El ácido SCN-CHX-A"-dietilenetriaminopentaacético (DTPA), agente quelante de ^{213}Bi (Macrocylics, EE.UU.) se acopló covalentemente al anti-CD38-MAb como se ha descrito anteriormente en Mirzadeh et al., 1990, Bioconjug Chem. 1(1):59-65. El ^{213}Bi emisor de α eluyó a partir de un sistema generador de $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ proporcionado por el Instituto de Elementos Transuránicos (Comisión Europea, JRC, Alemania) (Apostolidis et al., 2005, AnalChem. 77:6288-6291; Morgenstern et al., 2012, Curr. Radiopharm. 5(3):221-227). El anti-CD38-MAb quelado (100 µg) se incubó con la especie aniónica $^{213}\text{Bi}4\text{-}/^{213}\text{Bi}52\text{-}$, tal y como eluyó del generador, durante 7 min en tampón de acetato de amonio 0,4 M a pH 5,3. Los iones de ^{213}Bi no unidos se separaron de los inmunoconjugados ^{213}Bi -anti-CD38-MAB mediante cromatografía de exclusión por tamaño (columnas PD-10, GE Healthcare, Alemania). La pureza de los inmunoconjugados ^{213}Bi -anti-CD38 se comprobó mediante cromatografía en capa fina instantánea (Nikula et al. 1995, Nucl. Med. Biol. 22:387-390). La unión de los inmunoconjugados ^{213}Bi -anti-CD38 a las células OPM2, se analizó como se ha descrito anteriormente (Huber et al 2003, Clin. Cancer Res. 9(10Pt2):3922S-3982S). La CE₅₀ del

CHX-Aⁿ-DPTA-anti-CD38-MAB era de 16,4 nM, lo que indica que la afinidad del conjugado es apropiada para uso terapéutico.

Los resultados se muestran en la Figura 2A-2B. El porcentaje de anticuerpo marcado con ²¹³Bi unido era del 11,8% en las células RPMI, 4,9% en las células OPM2 y 1,6% en las células ARH77 (Fig. 2A), lo que indica una expresión diferencial de CD38 en las líneas celulares investigadas. Del mismo modo, los valores de DL₅₀ de ²¹³Bi-anti-CD38-MAB diferían en las diferentes líneas celulares: 0,185 MBq/ml para las células RPMI, 0,555 MBq/ml para las células OPM2 y 71,85 MBq/ml para las células ARH77, como se determinó mediante un ensayo de viabilidad celular CellTiter96[®] (Fig. 2B). Para un análisis adicional y estudios terapéuticos experimentales, se seleccionaron células OPM2 para los resultados de unión intermedios, para reflejar mejor la varianza de la expresión de CD38 en la situación clínica.

Ejemplo 3: Muerte celular en células de MM después del tratamiento con conjugado ²¹³Bi-anti-CD38-MAB

Para la determinación del valor DL50, las células OPM2 se sembraron en placas de 96 pocillos (1x10⁵ por pocillo en 100 µl de medio de cultivo) y se incubaron con diferentes concentraciones de actividad de ²¹³Bi-DTPA o ²¹³Bi-anti-CD38-MAB que oscilaban desde 46,3 kBq/ml a 1,48 MBq/ml durante 1 hora a 37°C. Las células se lavaron una vez con PBS y se incubaron en medio de nuevo aporte durante 96 h. A continuación, las células se tiñeron con azul de tripán para detectar las células muertas. El recuento de células muertas se realizó microscópicamente. Para la determinación de la cinética de la inducción de muerte celular, las células OPM2 (1x10⁵ por pocillo de una placa de 96 pocillos) se incubaron con 46,3 kBq/ml de ²¹³Bi-anti-CD38-MAB (correspondiente al valor DL50) durante 1 h a 37°C. Después de lavar una vez en PBS, las células se incubaron en medio de cultivo de nuevo aporte durante 24 h, 48 h, 72 h, 96 h o 120 h adicionales. Las células muertas se contaron después de la tinción con azul de tripán. Los resultados se muestran en las Figuras 3 y 4.

Las células OPM2, RPMI y ARH77 (2x10⁴ en 100 µl de medio de cultivo por pocillo) se sembraron en placas de 96 pocillos y se incubaron con concentraciones de actividad ²¹³Bi-anti-EGFR-MAB que oscilaban desde 46,3 kBq/ml hasta 1,48 MBq/ml. A las 48 h, después de la iniciación del tratamiento, se sometió a ensayo la viabilidad de las células en comparación con las células no tratadas, utilizando el ensayo de proliferación celular CellTiter96[®] (Promega, Madison, EE.UU.). Para ello se añadieron 15 µl de solución de colorante a cada pocillo y las placas se incubaron durante 4 horas a 37°C en una incubadora humidificada con CO₂. Posteriormente, se añadieron 100 µl de solución de solubilización/parada (producto formazán) a cada pocillo y la absorbancia se registró una hora más tarde a 570 nm, usando un lector de placas de 96 pocillos (BioTek, Bad Friedrichshall, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los resultados se muestran en la Figura 5.

Ejemplo 4: Roturas en la cadena doble de ADN inducidas con ²¹³Bi-anti-CD38-MAB en células OPM2 y ARH77.

La inducción de roturas en la cadena doble de ADN mediante el tratamiento con ²¹³Bi-anti-CD38-MAB (1,48 MBq/ml durante 3 horas a 4°C) se sometió a ensayo en células OPM2 y ARH77 y demostró ser diferente según las diferentes uniones a las células de los inmunconjugados ²¹³Bi-anti-CD38.

En particular, las células OPM2 y ARH77 se sembraron en portaobjetos de 8 cámaras cubiertos con poli-L-lisina (2,5x10⁴ células por cámara) y se trataron con ²¹³Bi-anti-CD38-MAB (1,48 MBq/ml) durante 3 horas a 4°C para evitar la reparación del ADN. Las células se lavaron con PBS y se incubaron en medio de cultivo a 37°C para permitir la reparación del ADN. En varios puntos de tiempo, se detectó γH2AX mediante inmunofluorescencia. Para este fin, las células se fijaron en paraformaldehído al 2%, se lavaron con PBS y se permeabilizaron con metanol enfriado con hielo, se lavaron con PBS y se incubaron con anticuerpo anti-γH2AX (Millipore, Schwalbach/Ts, Alemania; 1 h, TA) y anticuerpo anti-IgG acoplado con FITC (1 h, TA). La detección y la cuantificación de las señales de inmunofluorescencia se realizó mediante un análisis de imágenes utilizando la tecnología Cognition Network Technology[®] de Definiens.

Después de 0,5 horas del tratamiento, el número de focos de γH2AX por célula alcanzó un máximo para ambas líneas celulares, sin embargo, en las células OPM2, el número de focos de γH2AX era aproximadamente 2,5 veces mayor, en comparación con las células ARH77. En las células OPM2, el número de focos de γH2AX disminuía con el tiempo, pero no alcanzó valores de control, incluso después de 24 h. Por el contrario, en las células ARH77, los valores de control ya se alcanzaron 2 h después de la incubación con ²¹³Bi-anti-CD38-MAB (Fig. 6). Sin desear estar ligado a ninguna teoría o mecanismo particular, esto podría ser debido al número comparativamente bajo de focos de γH2AX inducidos o a una mejor capacidad de reparación de las células ARH77, en comparación con las células OPM2.

Ejemplo 5. ²¹³Bi-anti-CD38-MAB induce la detención del ciclo celular mitótico y un fallo mitótico posterior en las células OPM2

La detención del ciclo celular de las células OPM2 después del tratamiento con ²¹³Bi-anti-CD38-MAB (1,85 MBq/ml) durante 3 horas a 37°C se investigó mediante citometría de flujo. En particular, las células OPM2 (5x10⁶ por matraz de cultivo de 75 cm²) se incubaron con o sin inmunconjugados ²¹³Bi-anti-CD38 (1,48 MBq/ml) durante 3 h a 37°C. Posteriormente, las células se lavaron una vez con PBS y se incubaron en medio de cultivo de nuevo aporte durante

los períodos de tiempo indicados. Las células se lavaron en PBS y se fijaron en 0,5 ml de etanol al 80%. Para el análisis del ciclo celular, las células fijadas se incubaron con ARNasa (0,1 mg/ml; 5 min TA), se trataron con pepsina (5 mg/ml en HCl 50 mM; 10 min 37°C), se tiñeron con PI (50 µg/ml) y se sometieron a un análisis por citometría de flujo (FACScalibur, Becton Dickinson).

- 5 El porcentaje de células OPM2 detenidas en la fase G2 aumentó 12 h, 18 h y 24 h después del tratamiento y alcanzó un máximo del 55% a las 48 h. Al mismo tiempo, el porcentaje de células OPM2 en fase G1 cayó por debajo del 15% a las 48 h. Por el contrario, el nivel de células OPM2 no tratadas (controles) en la fase G2 y G1 se mantuvo constante aproximadamente en un 20% y 50%, respectivamente, durante todo el período de observación (Fig. 7A-7B). Los resultados se ilustran empleando histogramas representativos que muestran las proporciones de células en fase G1, S y G2 en células OPM2 sin tratar y tratadas con ²¹³Bi-anti-CD38-MAb (Fig. 7C).

10 Para caracterizar mejor la fase del ciclo celular en la que se detenían las células, se realizó una citometría de flujo con parámetro doble con tinción de la fosfo-histona H3. En particular, las células OPM2 (2x10⁶ por pocillo de una placa de 6 pocillos) se incubaron con o sin inmunocnjugados ²¹³Bi-anti-CD38 (0,74 MBq/ml). Al cabo de 120 h después del tratamiento, las células se lavaron una vez con PBS y se fijaron en etanol helado al 70%. Las células se lavaron de nuevo con PBS y se incubaron con anticuerpo anti-fosfo-histona-H3 (1:200; Cell Signaling Technology/New England Biolabs, Frankfurt, Alemania) en 1% de BSA durante 3 h a temperatura ambiente (TA). Después de lavar con PBS, las células se incubaron con el anticuerpo secundario anti-IgG acoplado con FITC (de conejo, 1:1000; Abcam, Cambridge, GB) durante 1 h a TA. Finalmente, las células se lavaron con PBS y se resuspendieron en 5 µg/ml de yoduro de propidio (PI) + 0,1% de ARNasa. La fluorescencia de PI y FITC de las células se analizó mediante citometría de flujo de doble parámetro.

15 La histona H3 se fosforila en la serina 10 después de que las células entren en mitosis y la fosforilación se correlaciona con una condensación de cromosomas mitóticos (Wei Y, et al, 1999, Cell 97(1):99-109). Como se muestra en la Fig. 8A, 120 h después del tratamiento con ²¹³Bi-anti-CD38-MAb (0,74 MBq/ml), las células OPM2 se detuvieron con un contenido en ADN 4n, que es indicativo de una detención en G2/M, y como se muestra en la Fig. 8B, demuestra un fuerte aumento de la fosforilación de las histonas H3, lo que indica que las células habían entrado en mitosis a pesar del tratamiento con radiación α que dañaba el ADN.

20 Una caracterización adicional se realizó mediante inmunotransferencia de extractos celulares. Los eventos que activan el punto de control principal G2/M como la estabilización con claspina y Wee1, así como la desestabilización con Plk1 (Bassermann, F, et al., 2008, Cell 134(2):256) estaban ausentes a pesar de la presencia de un daño en el ADN, como se evidenciaba por la fosforilación de la histona H2AX (γH2AX) (Fig. 8C). En lugar de ello, las células entraron en mitosis (mostrada por la fosforilación de la histona H3) y se sometieron a una apoptosis posterior como se muestra por la escisión de PARP y la pro-caspasa 3 (Fig. 8D). Téngase en cuenta que se observó una estabilización sustancial de BimEL pro-apoptótico (mediador de la muerte celular que interacciona con Bcl-2, forma larga extra), (Fig. 8D) lo que, sin desear estar ligado a ninguna teoría o mecanismo particular, es consistente con que BimEL está implicado en este evento de muerte celular mitótica.

25 Las observaciones descritas en el presente documento indican que un tratamiento de las células OPM2 con ²¹³Bi-anti-CD38-MAb induce un daño significativo en el ADN, lo que sin embargo no da lugar a la activación del punto de control G2 como respuesta al daño del ADN, pero en su lugar da como resultado una detención mitótica y un fallo mitótico posterior.

30 La inmunotransferencia se realizó del modo siguiente: las células OPM2 (2x10⁶ por pocillo de una placa de 6 pocillos) se incubaron con ²¹³Bi-anti-CD38-MAb (0,74 MBq/ml). En diferentes puntos de tiempo después del inicio de la incubación, es decir, a las 0, 5, 9, 24, 48, 72, 96 y 120 h, las células se lavaron en PBS y posteriormente se lisaron (Tris 50 mM, pH 7,5; NaCl 250 mM; 0,1% de Triton X-100; EDTA 1 mM; NaF 50 mM + inhibidores de proteasas) a 4°C durante 10 min. Los lisados se centrifugaron (13.500 rpm, 4°C, 10 min) y el material sobrenadante (que contenía 25 µg de cada proteína; kit de ensayo de proteínas BCA, Pierce, EE.UU.) se sometió a SDS-PAGE. La transferencia Western que empleaba diferentes anticuerpos contra la claspina (regalo de Michele Pagano), cdc20 (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Alemania), p27 (BD Biosciences, Heidelberg, Alemania), Plk1 (Invitrogen/Life Technologies, Darmstadt, Alemania), wee1, ciclina B1, p-HH3, BimEL, Bax, PARP escindida (todos de Cell Signaling Technology/New England Biolabs, Frankfurt, Alemania), γH2AX, caspasa-3 activa (todos de Millipore, Schwalbach/Ts, Alemania), anticuerpo monoclonal anti-β-actina conjugado con peroxidasa (clon 8226, Abcam, Cambridge, GB) y anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado con peroxidasa (GE Healthcare, Hatfield, GB), se realizó como se ha descrito previamente (Vallon, M, et al., 2010. Exp Res. 316(3):412-421).

Ejemplo 6: Conjugado ²¹³Bi-anti-CD38-MAb en un modelo en ratón con xenoinjerto de MM

35 Las células OPM2-Luc-GFP (2,5x10⁷ en 100 µl de PBS) se inocularon por vía intraperitoneal en ratones SCID de 6-8 semanas de edad (Charles River, Alemania). Veinticinco días después de que se inició el tratamiento fraccionado de inoculación de células, los animales portadores de tumores (n = 9) recibieron seis aplicaciones intraperitoneales de ²¹³Bi-anti-CD38-MAb (1,85 MBq cada una en 100 µl de PBS) cada tercer o cuarto día (véase la Fig. 9), de acuerdo con un esquema terapéutico que se había aplicado con éxito en estudios previos (Drecoll et al., 2009, PLoS One

4(5):e5715; Essler et al., 2012, Eur J. Nucl Med Mol Imaging 39(4):602-12; Vallon et al., 2012, Eur J. Nucl Med Mol Imaging 39(12):1886-97). De forma correspondiente, a los animales del grupo de control (n = 9) se les inyectó por vía intraperitoneal, seis veces 100 µl de PBS. La eficacia de la terapia se controló de forma no invasiva en dos ratones, uno del grupo de tratamiento y el otro del grupo de control mediante formación de imágenes por bioluminiscencia del desarrollo del tumor, 34, 47 y 59 días después de la inoculación de las células tumorales. Por lo tanto, la formación de imágenes por bioluminiscencia se realizó dos días después del tercer tratamiento (d 34) y cinco así como 17 días después del sexto tratamiento (d 47, d 59). La formación de imágenes se realizó con ratones anestesiados, 10 min después de una inyección intraperitoneal de 300 µl de D-luciferina (50 mM en NaCl al 0,9%) usando una cámara CCD refrigerada (Hamamatsu, Alemania). La supervivencia exenta de síntomas se controló hasta 200 días después de la inoculación de las células tumorales.

En ratones portadores de xenoinjertos de OPM2, se observó que con el tratamiento con ²¹³Bi-anti-CD38-MAb se prolongaba la supervivencia en comparación con el tratamiento con ²¹³Bi-DTPA inespecífica o PBS. La supervivencia media era de 60 días en el grupo PBS, de 55 días en el grupo ²¹³Bi-DTPA y de 100 días en el grupo ²¹³Bi-anti-CD38. Tres animales del grupo tratado con ²¹³Bi-anti-CD38-MAb sobrevivieron más de 200 días (Fig. 10). Como se demostró por formación de imágenes por bioluminiscencia no invasiva, en dos animales, el tamaño del tumor se mantuvo constante después del tratamiento con ²¹³Bi-anti-CD38-MAb los días 34, 47 y 59 después de la inoculación de las células tumorales, mientras que se incrementaba drásticamente en los ratones tratados con PBS (Fig. 11). En consecuencia, los pesos de los tumores eran significativamente diferentes en los ratones tratados con ²¹³Bi-anti-CD38-MAb y con PBS (Fig. 12).

En un experimento adicional, células OPM2-Luc-GFP ($2,5 \times 10^7$ en 100 µl de PBS) se inocularon por vía intraperitoneal en ratones SCID de 6-8 semanas de edad (Charles River, Alemania). Veinticinco días después de que se inició el tratamiento fraccionado de inoculación de células: los animales portadores de tumores (n = 9) recibieron aplicaciones intraperitoneales de MOR202. La eficacia de la terapia se controla de forma no invasiva en dos ratones, uno del grupo de tratamiento y otro del grupo de control mediante formación de imágenes por bioluminiscencia del desarrollo del tumor, 34, 47 y 59 días después de la inoculación de las células tumorales. Por lo tanto, la formación de imágenes por bioluminiscencia se realiza dos días después del tercer tratamiento (d 34) y cinco así como 17 días después del sexto tratamiento (d 47, d 59). La formación de imágenes se realiza con ratones anestesiados, 10 min después de una inyección intraperitoneal de 300 µl de D-luciferina (50 mM en NaCl al 0,9%) usando una cámara CCD refrigerada (Hamamatsu, Alemania). La supervivencia exenta de síntomas se controla hasta 200 días después de la inoculación de las células tumorales.

El día 59 después de la inoculación de las células tumorales, es decir, 17 días después del sexto tratamiento, tres ratones de cada grupo fueron sacrificados y el tejido tumoral restante, así como diferentes órganos (corazón, hígado, pulmón, bazo, páncreas, hueso, cerebro, riñones, estómago e intestino) se extrajeron, se pesaron y se fijaron en formalina tamponada al 4%. Posteriormente, los órganos y los tumores se incluyeron en parafina. Los cortes de los órganos principales (4 µm) se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E) y se sometieron a un análisis de toxicidad. Para la detección y la cuantificación de necrosis, cortes en parafina de 1 µm de espesor se tiñeron con H&E y se evaluaron con el programa informático de análisis de imágenes TissueMap (Definiens, Múnich, Alemania). Para la detección inmunohistoquímica de células apoptóticas, los cortes en parafina se desparafinaron, se rehidrataron y se incubaron con un anticuerpo anti-caspasa-3 (1:100; Abcam, Cambridge, GB) durante 2 h a temperatura ambiente. La unión del anticuerpo anti-caspasa-3 se verificó utilizando un anticuerpo secundario marcado con peroxidasa de rábano picante y DAB (tetraclorhidrato de 3,3-diaminobenzidina) como sustrato (kit de detección de DAB, Roche-Ventana, Penzberg, Alemania). El análisis inmunohistoquímico se realizó automáticamente utilizando el programa CC1 del dispositivo de inmunotinción Discovery XT (Roche-Ventana, Penzberg, Alemania). Las imágenes se adquirieron empleando un sistema de microscopía virtual (Olympus-Dotslide, versión 2.0, Hamburgo, Alemania). Por último, la cuantificación de los porcentajes de células apoptóticas presentes en las secciones de tumor, se realizó utilizando el programa informático TissueMap de Definiens.

La detección inmunohistoquímica de células apoptóticas en los tejidos tumorales remanentes a través de la caspasa-3 activa, se realizó dos semanas después del último ciclo de tratamiento y mostraba un número elevado de células apoptóticas en los tumores procedentes de animales tratados con ²¹³Bi-anti-CD38-MAb pero no en los controles con PBS (Fig. 13A). Lo mismo es válido para la detección de células necróticas en cortes de tumores teñidos con H&E, utilizando el programa informático de análisis de imágenes TissueMap (Fig. 13B). Además, el análisis de los cortes teñidos con H&E de los órganos principales, no reveló ningún signo de toxicidad.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> MorphoSys AG

<120> ANTICUERPO MARCADO RADIATIVAMENTE Y USOS DEL MISMO

<130> 103374PC

ES 2 621 377 T3

<140> pendiente de asignación
< 141>

<150> 61/722.256
< 151> 2012-11-05

5 <160> 14

<170> FastSEQ for Windows versión 4.0

<210> 1
< 211> 10
< 212> PRT
10 < 213> Desconocido

<220>
< 223> Región HCDR1 de anticuerpo específico de CD38

<400> 1
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr Met Asn
1 5 10

15 <210> 2
< 211> 17
< 212> PRT
< 213> Desconocido

<220>
20 < 223> Región HCDR2 de anticuerpo específico de CD38

<400> 2
Gly Ile Ser Gly Asp Pro Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 3
< 211> 11
25 < 212> PRT
< 213> Desconocido

<220>
< 223> Región HCDR3 de anticuerpo específico de CD38

<400> 3
30 Asp Leu Pro Leu Val Tyr Thr Gly Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 4
< 211> 11
< 212> PRT
< 213> Desconocido

35 <220>
< 223> Región LCDR1 de anticuerpo específico de CD38

<400> 4
Ser Gly Asp Asn Leu Arg His Tyr Tyr Val Tyr
1 5 10

ES 2 621 377 T3

<210> 5
 < 211> 7
 < 212> PRT
 < 213> Desconocido

5 <220>
 < 223> Región LCDR2 de anticuerpo específico de CD38

<400> 5
 Gly Asp Ser Lys Arg Pro Ser
 1 5

10 <210> 6
 < 211> 9
 < 212> PRT
 < 213> Desconocido

<220>
 < 223> Región LCDR3 de anticuerpo específico de CD38

15 <400> 6
 Gln Thr Tyr Thr Gly Gly Ala Ser Leu
 1 5

<210> 7
 < 211> 300
 < 212> PRT
 20 < 213> Homo sapiens

<220>
 < 223> Secuencia de CD38 humano

<400> 7
 Met Ala Asn Cys Glu Phe Ser Pro Val Ser Gly Asp Lys Pro Cys Cys
 1 5 10 15
 Arg Leu Ser Arg Ala Gln Leu Cys Leu Gly Val Ser Ile Leu Val
 20 25 30
 Leu Ile Leu Val Val Val Leu Ala Val Val Val Pro Arg Trp Arg Gln
 35 40 45
 Gln Trp Ser Gly Pro Gly Thr Thr Lys Arg Phe Pro Glu Thr Val Leu
 50 55 60
 Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Ile His Pro Glu Met Arg His Val
 65 70 75 80
 Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys Gly Ala Phe Ile Ser Lys
 85 90 95
 His Pro Cys Asn Ile Thr Glu Glu Asp Tyr Gln Pro Leu Met Lys Leu
 100 105 110
 Gly Thr Gln Thr Val Pro Cys Asn Lys Ile Leu Leu Trp Ser Arg Ile
 115 120 125
 Lys Asp Leu Ala His Gln Phe Thr Gln Val Gln Arg Asp Met Phe Thr
 130 135 140
 Leu Glu Asp Thr Leu Leu Gly Tyr Leu Ala Asp Asp Leu Thr Trp Cys
 145 150 155 160
 Gly Glu Phe Asn Thr Ser Lys Ile Asn Tyr Gln Ser Cys Pro Asp Trp
 165 170 175
 Arg Lys Asp Cys Ser Asn Asn Pro Val Ser Val Phe Trp Lys Thr Val
 180 185 190
 Ser Arg Arg Phe Ala Glu Ala Ala Cys Asp Val Val His Val Met Leu
 195 200 205
 Asn Gly Ser Arg Ser Lys Ile Phe Asp Lys Asn Ser Thr Phe Gly Ser
 210 215 220

ES 2 621 377 T3

Val Glu Val His Asn Leu Gln Pro Glu Lys Val Gln Thr Leu Glu Ala
 225 230 235 240
 Trp Val Ile His Gly Gly Arg Glu Asp Ser Arg Asp Leu Cys Gln Asp
 245 250 255
 Pro Thr Ile Lys Glu Leu Glu Ser Ile Ile Ser Lys Arg Asn Ile Gln
 260 265 270
 Phe Ser Cys Lys Asn Ile Tyr Arg Pro Asp Lys Phe Leu Gln Cys Val
 275 280 285
 Lys Asn Pro Glu Asp Ser Ser Cys Thr Ser Glu Ile
 290 295 300

<210> 8

5

<400> 8
000

<210> 9

<400> 9
000

10

<210> 10
 < 211> 120
 < 212> PRT
 < 213> Desconocido

<220>

< 223> cadena pesada variable de anticuerpo específico de CD38

15

<400> 10
 Gln 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 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Gly Asp Pro Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Leu Pro Leu Val Tyr Thr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 11

20

< 211> 109
 < 212> PRT
 < 213> Desconocido

<220>

< 223> cadena pesada variable de anticuerpo específico de CD38

ES 2 621 377 T3

<400> 11
 Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg His Tyr Tyr Val
 20 25 30
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Gly Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Thr Gly Gly Ala Ser Leu
 85 90 95
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
 100 105

5 <210> 12
 < 211> 360
 < 212> ADN
 < 213> Secuencia artificial

10 <220>
 < 223> Secuencia de ADN que codifica el dominio pesado variable de MOR202

<400> 12
 caggtgcaat tgggtgaaag cggcggcggc ctggtgcaac cggcggcag cctgctctg 60
 agctgcgcg cctccgatt tacctttct tctattata tgaattggg gcgccaagc 120
 cctgggaagg gtctcgagt ggtgagcgg atctctggtg atcctagcaa tacctattat 180
 gcgatagcg tgaaggccg tttaccatt tcacgtgata attcgaaaa caccctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg tgcggaagat acggcctgtg attattgctg cggtgatctt 300
 cctcttgttt atactggttt tgcttattgg ggccaaggca ccctggtgac ggttagctca 360

15 <210> 13
 < 211> 327
 < 212> ADN
 < 213> Secuencia artificial

<220>
 < 223> Secuencia de ADN que codifica el dominio ligero variable de MOR202

<400> 13
 gatatcgaac tgaccagcc gccttcagtg agcgttgcac caggtcagac cgcgcgtatc 60
 tcgtgtagcg gcgataatct tcgtcattat tatgtttatt ggtaccagca gaaaccggg 120
 caggcggcag ttcttgtgat ttatggtgat tctaagcgtc cctcaggcat cccggaacgc 180
 tttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg accctgacca ttagcggcac tcaggcggaa 240
 gacgaagcgg attattattg ccagacttat actggtggtg cttctcttgt gtttggcggc 300
 ggcacgaagt taaccgttct tggccag 327

20 <210> 14
 < 211> 5
 < 212> PRT
 < 213> Desconocido

25 <220>
 < 223> Región HCDR1 de anticuerpo específico de CD38

<400> 14
 Ser Tyr Tyr Met Asn
 1 5

REIVINDICACIONES

5 1. Un radioconjugado que comprende un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o SYYMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2), una HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGfAY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGDNLRHYYVY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6).

2. El radioconjugado según la reivindicación 1, en el que la región HCDR1 comprende SYYMN (SEQ ID NO: 14).

3. El radioconjugado según la reivindicación 1, en el que el radioisótopo comprende un isótopo que emite partículas α .

10 4. El radioconjugado según la reivindicación 1, en el que el radioisótopo se selecciona a partir de yodo-131, itrio-90, lutecio-177, cobre-67, astato-211, bismuto-212, bismuto-213 y actinio-225.

5. El radioconjugado según la reivindicación 4, en el que el radioisótopo es bismuto-213.

6. El radioconjugado según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el anticuerpo comprende una cadena pesada variable con la secuencia

15 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGDPSNTYY
ADSVKGRFTISRDNskNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGfAYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 10),

y una cadena ligera variable con la secuencia

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYWYQKPGQAPVLVIYGDSKRPSGIPERFS
GSNSGNTATLTISGTQAEDeADYYCQTYTGGASLVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 11).

7. El radioconjugado según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el anticuerpo comprende una región Fc de IgG1 modificada, en donde dicha modificación mejora la actividad ADCC o CDC.

20 8. Un radioconjugado según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para uso en el tratamiento del mieloma múltiple en un individuo que lo requiere.

9. El radioconjugado para uso según la reivindicación 8, en donde el radioconjugado comprende un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o con la secuencia SYYMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGfAY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGDNLRHYYVY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y ²¹³Bi.

10. El radioconjugado para uso según la reivindicación 9, en donde la región HCDR1 del radioconjugado comprende SYYMN (SEQ ID NO: 14).

30 11. El radioconjugado para uso según la reivindicación 9, en donde el radioconjugado comprende una región de anticuerpo que comprende una cadena pesada variable con la secuencia

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGDPSNTYY
ADSVKGRFTISRDNskNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGfAYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 10),

y una cadena ligera variable con la secuencia

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYWYQKPGQAPVLVIYGDSKRPSGIPERFS
GSNSGNTATLTISGTQAEDeADYYCQTYTGGASLVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 11).

35 12. Un radioconjugado según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para uso en el tratamiento del linfoma no Hodgkin en un individuo que lo requiere.

- 5 13. El radioconjugado para uso según la reivindicación 12, en donde el radioconjugado comprende un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o con la secuencia SYYMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGfAY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGDNLRHYYVY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y ²¹³Bi.
14. El radioconjugado para uso según la reivindicación 13, en el que la región HCDR1 del radioconjugado comprende SYYMN (SEQ ID NO: 14).
- 10 15. El radioconjugado para uso según la reivindicación 13, en donde el radioconjugado comprende un anticuerpo específico de CD38 que comprende una región HCDR1 con la secuencia GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1) o con la secuencia SYYMN (SEQ ID NO: 14), una región HCDR2 con la secuencia GISGDPSNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 con la secuencia DLPLVYTGfAY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 con la secuencia SGDNLRHYYVY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 con la secuencia GDSKRPS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 con la secuencia QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6) y ²¹³Bi.
- 15

Figura 1

La secuencia de aminoácidos del dominio pesado variable de MOR202 es:

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGDPS
NTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFA YWGQGL
VTVSS (SEQ ID NO: 10)

La secuencia de aminoácidos del dominio ligero variable de MOR202 es:

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYVYVYQKPGQAPVLVIYGDSKRPSGI
PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYQCQTYTGGASLVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO:
11)

La secuencia de aminoácidos de la HCDR1 de MOR202 tal y como se define por una nomenclatura interna es: GFTFSSYYMN (SEQ ID NO: 1)

La secuencia de aminoácidos de la HCDR1 de MOR202 tal y como se define por Kabat es: SYMN (SEQ ID NO: 14)

La secuencia de aminoácidos de la HCDR2 de MOR202 tal y como se define por Kabat es: GISGDPSNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 2)

La secuencia de aminoácidos de la HCDR3 de MOR202 tal y como se define por Kabat es: DLPLVYTGFA Y (SEQ ID NO: 3)

La secuencia de aminoácidos de la LCDR1 de MOR202 tal y como se define por Kabat es: SGDNLRHYVY (SEQ ID NO: 4)

La secuencia de aminoácidos de la LCDR2 de MOR202 tal y como se define por Kabat es: GDSKRPS (SEQ ID NO: 5)

La secuencia de aminoácidos de la LCDR3 de MOR202 tal y como se define por Kabat es: QTYTGGASL (SEQ ID NO: 6)

Fig. 2A

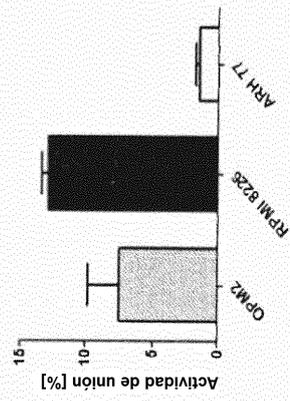


Fig. 2B

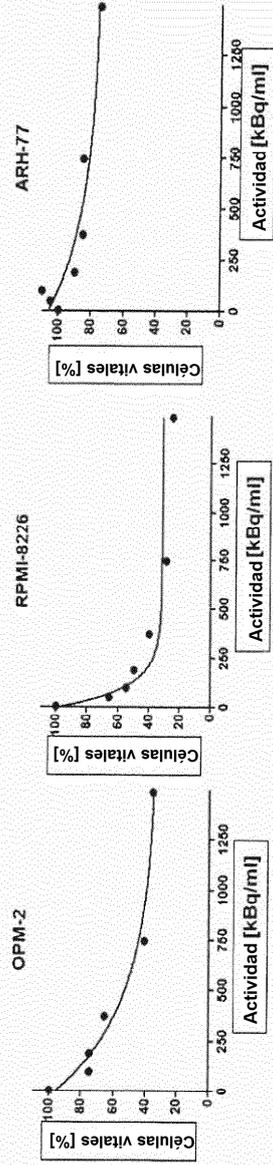


Figura 3

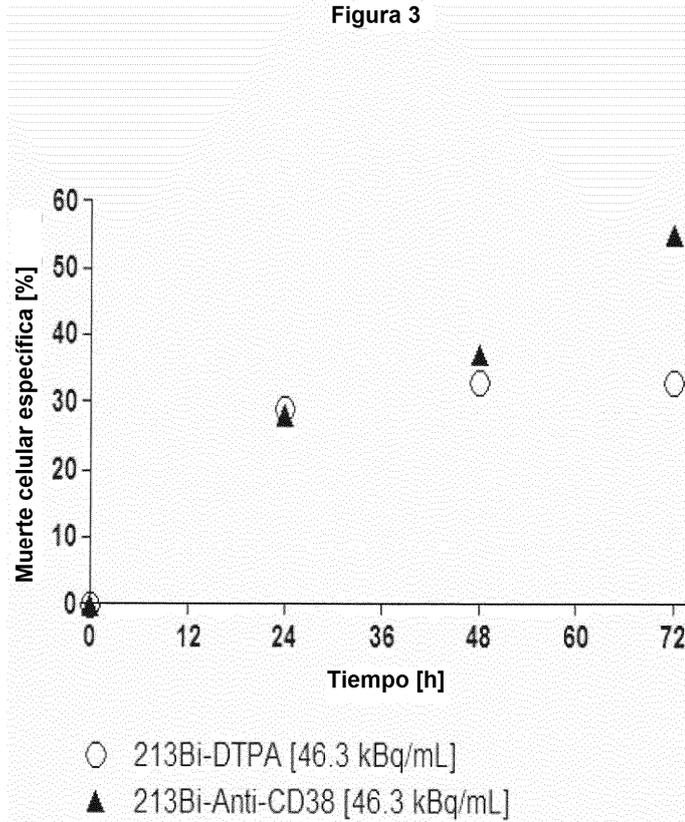


Figura 4

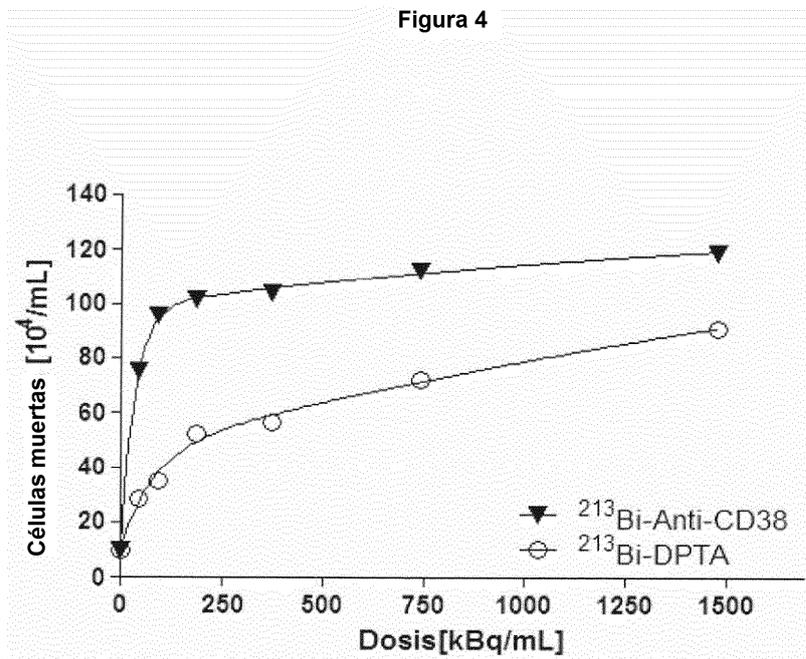
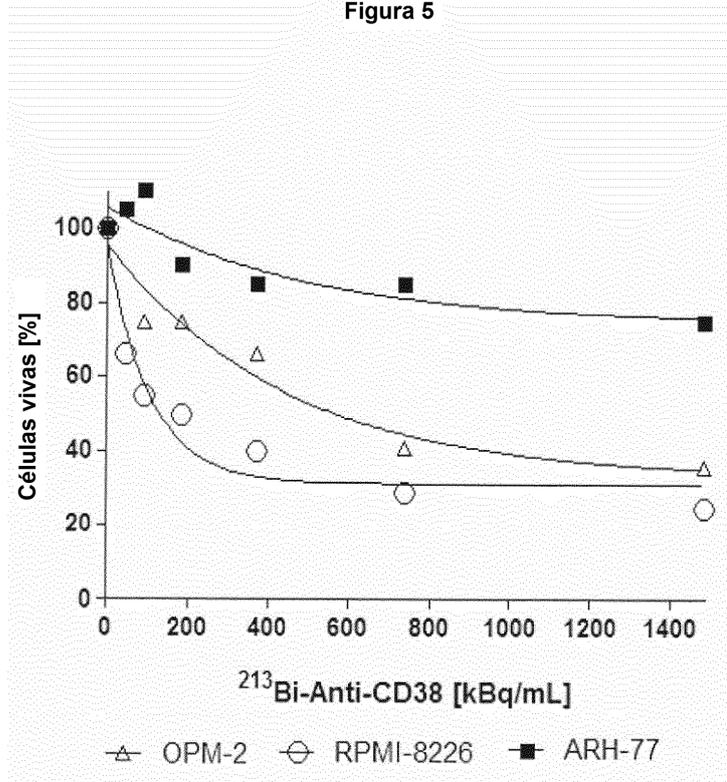


Figura 5



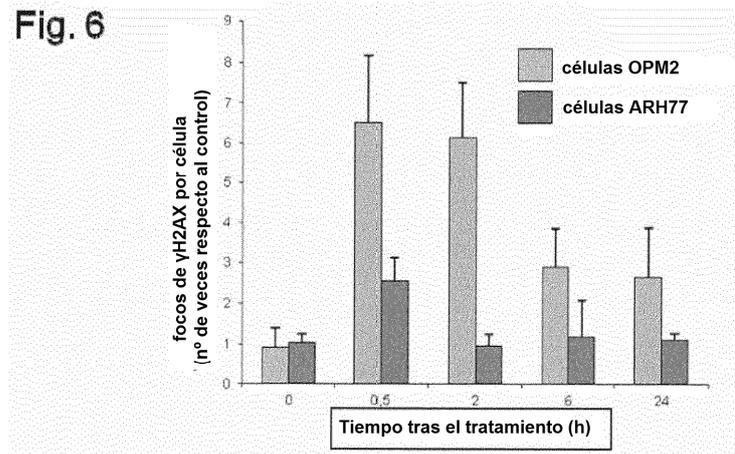


Fig. 7A

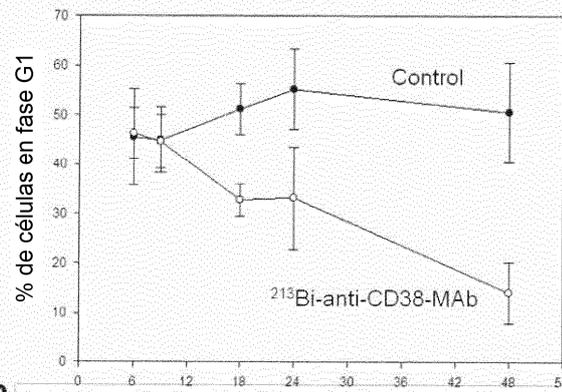
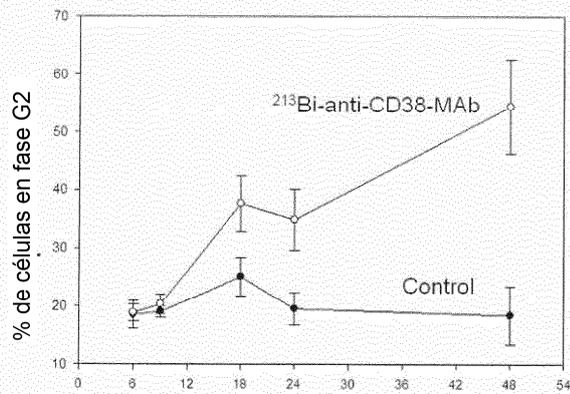
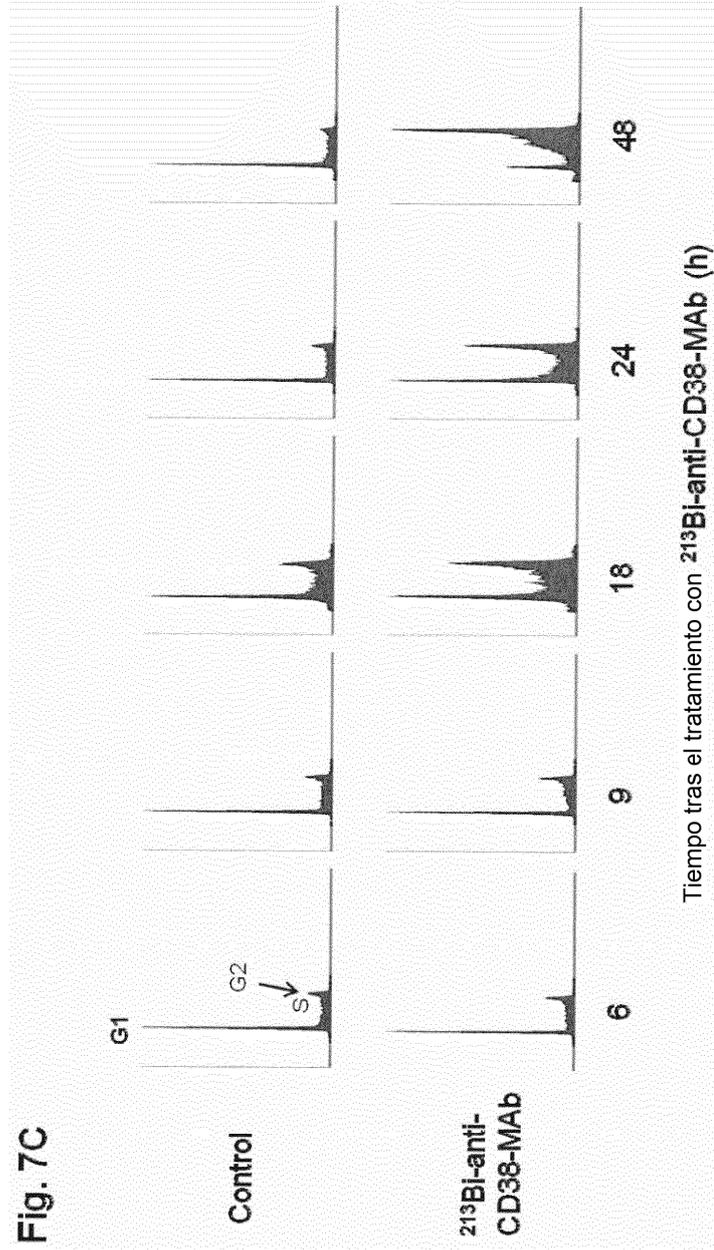


Fig. 7B



Tiempo tras el tratamiento con ^{213}Bi -anti-CD38-MAb (h)



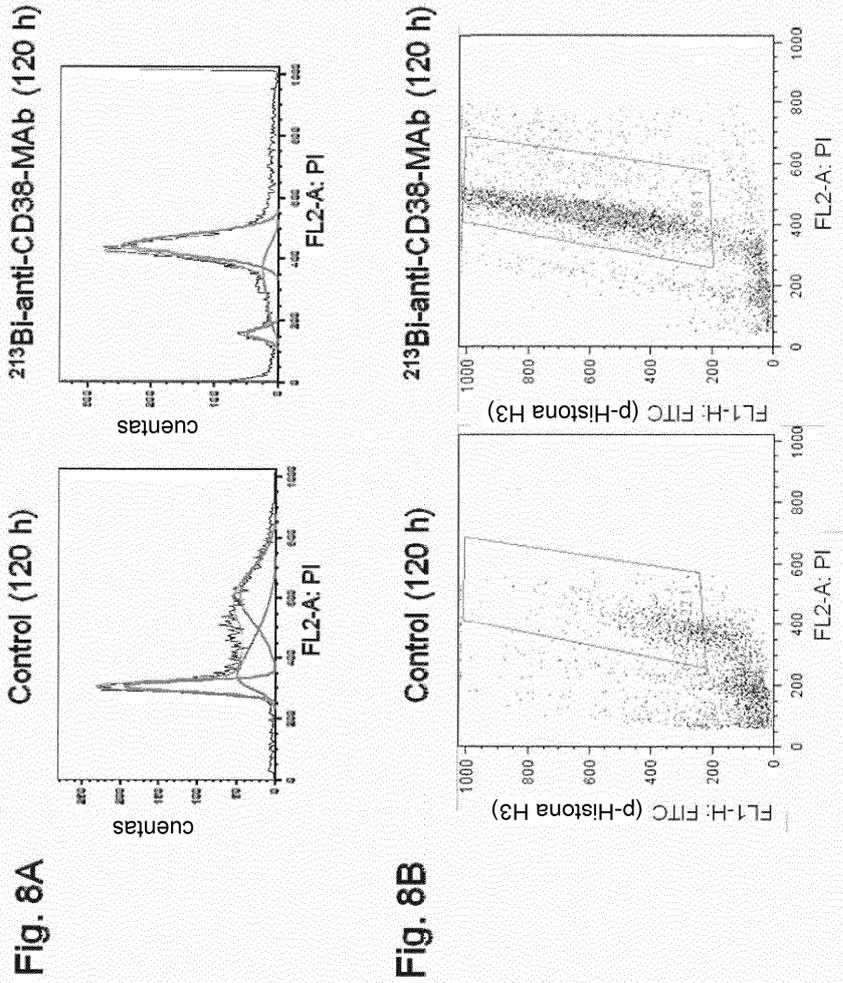


Fig. 8C

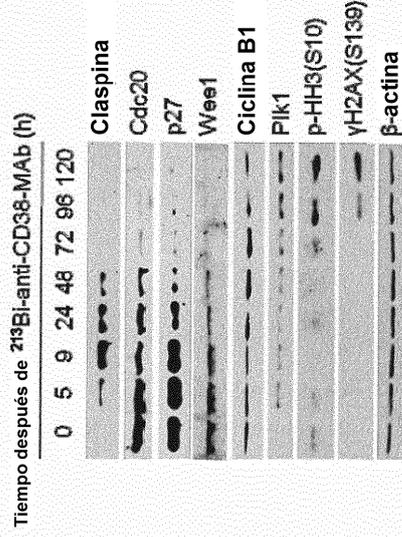
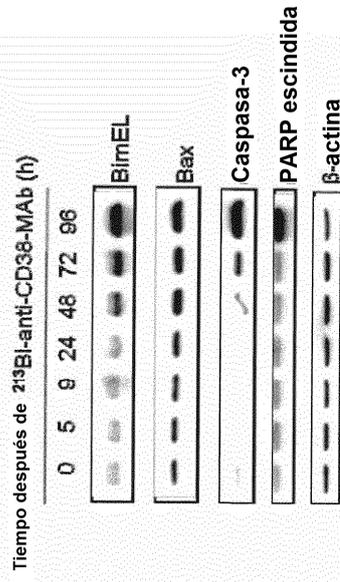
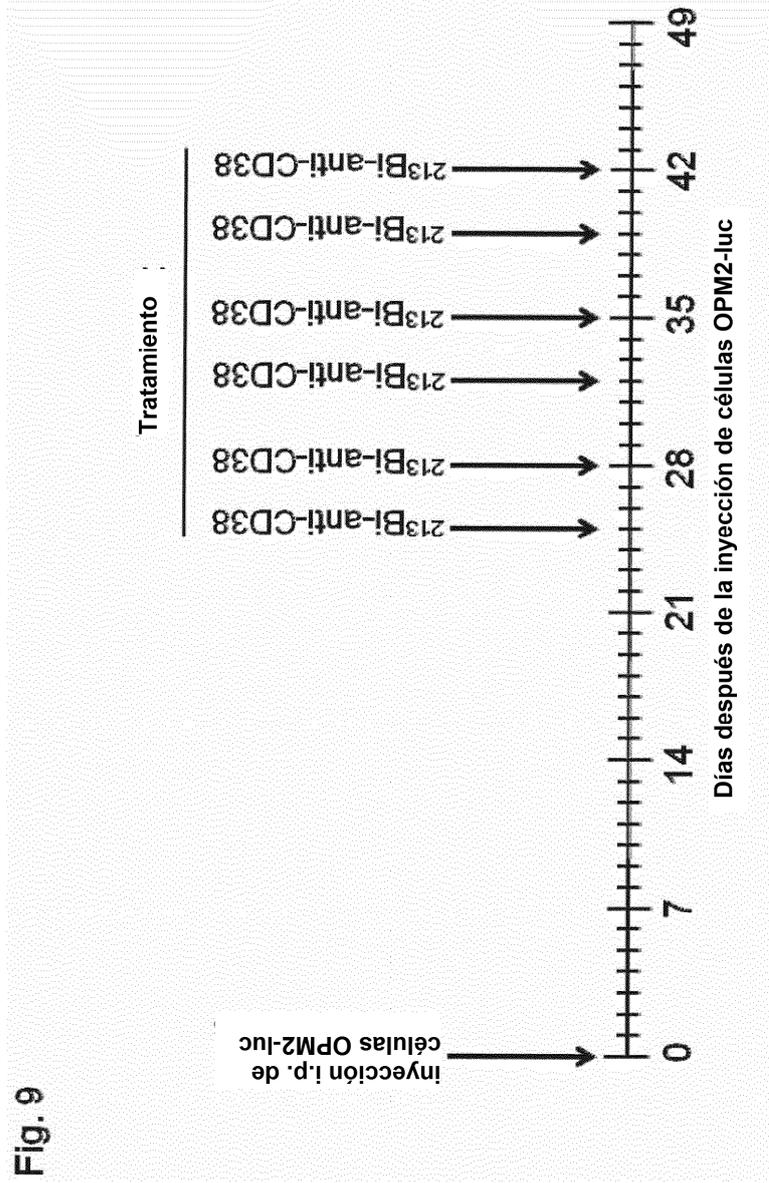
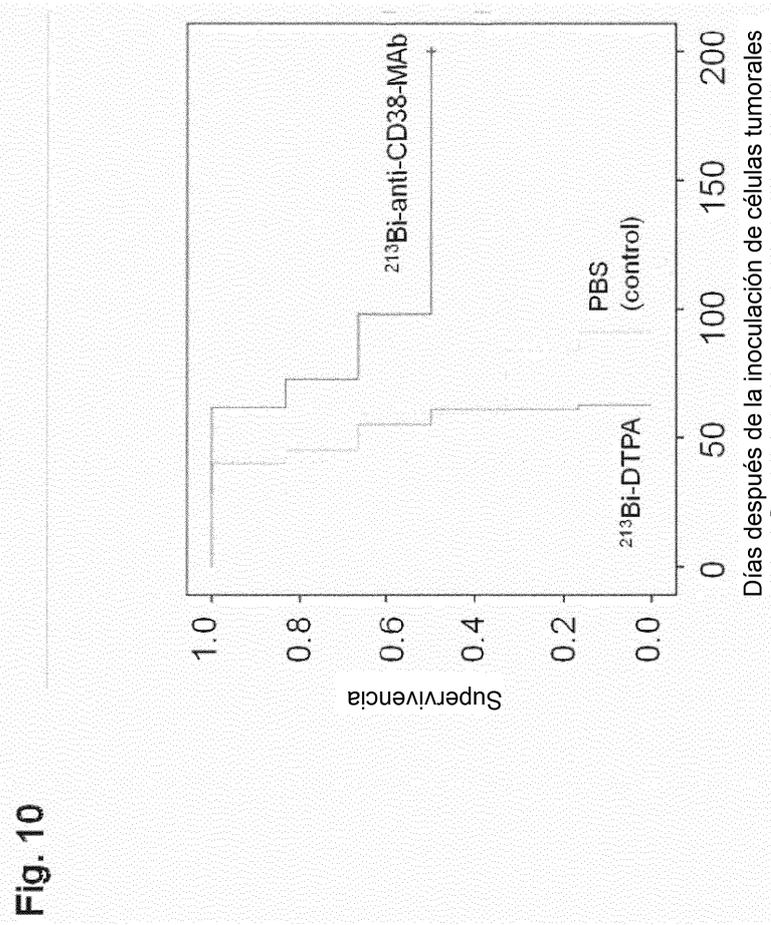


Fig. 8D







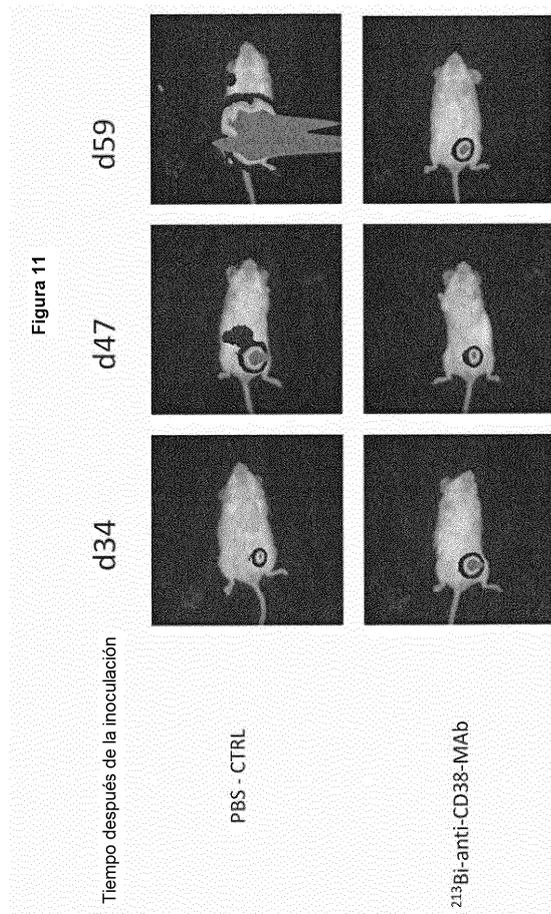
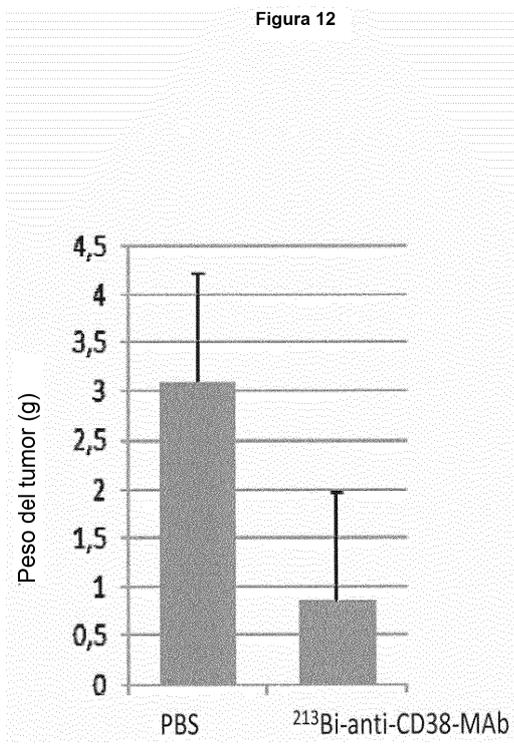


Figura 12



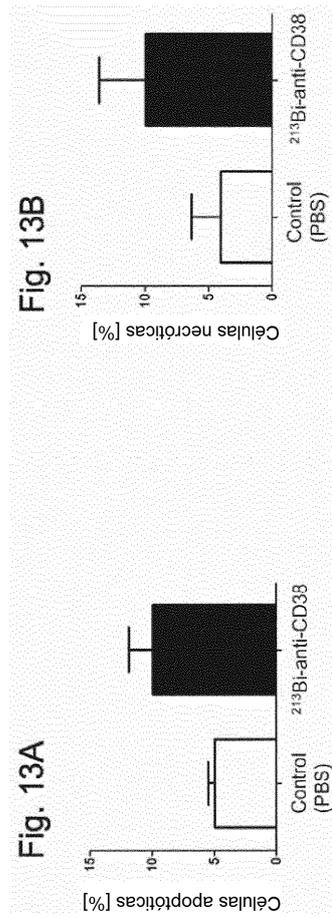


Figura 13C

