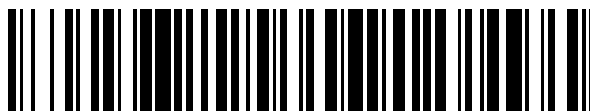


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 431**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/505 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.05.2016 PCT/EP2016/061744**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2016 WO16189014**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.05.2016 E 16725504 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2019 EP 3302550**

54 Título: **Combinación de un anticuerpo anti-cd19 y un inhibidor de la tirosina quinasa de Bruton y usos de la misma**

30 Prioridad:

26.05.2015 EP 15169124

27.11.2015 EP 15196860

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

17.04.2020

73 Titular/es:

MORPHOSYS AG (100.0%)

Semmelweisstrasse 7

82152 Planegg, DE

72 Inventor/es:

ENDELL, JAN;

BOXHAMMER, RAINER y

WINDERLICH, MARK

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 754 431 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

Combinación de un anticuerpo anti-cd19 y un inhibidor de la tirosina quinasa de Bruton y usos de la misma

Campo de la invención

5 La presente divulgación se refiere a una combinación farmacéutica de un anticuerpo anti-CD19 y un inhibidor de la tirosina quinasa de Bruton (BTK) para el tratamiento del linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda.

Antecedentes

10 Los linfocitos B son linfocitos que desempeñan un papel importante en la respuesta inmunitaria humoral. Se producen en la médula ósea de la mayoría de los mamíferos y representan del 5 al 15 % del grupo de linfoides circulantes. La función principal de los linfocitos B es producir anticuerpos contra diversos antígenos, y son un componente esencial del sistema inmunitario adaptativo.

Debido a su papel crucial en la regulación del sistema inmunitario, la regulación alterada de los linfocitos B se asocia con diversos trastornos, tales como linfomas y leucemias. Estos incluyen linfoma no Hodgkin (LNH), leucemia linfocítica crónica (LLC) y leucemia linfoblástica aguda (LLA).

15 El LNH es un tumor maligno heterogéneo que se origina en los linfocitos. En Estados Unidos (EE. UU.), la incidencia se estima en 65.000/año con una mortalidad de aproximadamente 20.000 (American Cancer Society, 2006; y SEER Cancer Statistics Review). La enfermedad se puede producir a todas las edades, el inicio habitual comienza en adultos mayores de 40 años, aumentando la incidencia con la edad. El LNH se caracteriza por una proliferación clonal de linfocitos que se acumulan en los ganglios linfáticos, la sangre, la médula ósea y el bazo, aunque puede afectar a cualquier órgano importante. El sistema de clasificación actual utilizado por los anatómo-patólogos y médicos es la Clasificación de tumores de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que organiza el LNH en neoplasias de células precursoras y de linfocitos B o linfocitos T maduros. El PDQ actualmente divide el LNH en indolente o agresivo para entrar en los ensayos clínicos. El grupo de LNH indolente se compone principalmente de subtipos foliculares, linfoma linfocítico pequeño, MALT (tejido linfoide asociado a la mucosa) y zona marginal; EL indolente abarca aproximadamente el 50 % de los pacientes recién diagnosticados con linfoma no Hodgkin de linfocitos B. El LNH agresivo incluye pacientes con diagnósticos histológicos de linfocitos B grandes principalmente difusos (DLBL, DLBCL o DLCL) (el 40 % de todos los pacientes recién diagnosticados tienen células grandes difusas), de Burkitt y de células del manto. El curso clínico del LNH es muy variable. Un determinante importante del curso clínico es el subtipo histológico. La mayoría de los tipos indolentes de LNH se consideran enfermedades incurables. Los pacientes responden inicialmente a la quimioterapia o la terapia con anticuerpos y la mayoría recaerá. Los estudios hasta la fecha no han demostrado una mejora en la supervivencia con intervención temprana. En pacientes asintomáticos, es aceptable "observar y esperar" hasta que el paciente se vuelva sintomático o el ritmo de la enfermedad parezca estar acelerándose. Con el paso del tiempo, la enfermedad puede transformarse en una histología más agresiva. La mediana de la supervivencia es de 8 a 10 años y los pacientes indolentes a menudo reciben 3 o más tratamientos durante la fase de tratamiento de su enfermedad. El tratamiento inicial del paciente con LNH indolente sintomático históricamente ha sido la quimioterapia combinada. Los agentes más utilizados incluyen: ciclofosfamida, vincristina y prednisona (CVP); o ciclofosfamida, adriamicina, vincristina, prednisona (CHOP). Aproximadamente del 70 % al 80 % de los pacientes responderán a su quimioterapia inicial, la duración de las remisiones dura del orden de 2-3 años. En última instancia, la mayoría de los pacientes recae. El descubrimiento y el uso clínico del anticuerpo anti-CD20, rituximab, ha proporcionado mejoras significativas en la respuesta y la tasa de supervivencia. La referencia actual de cuidados para la mayoría de los pacientes es rituximab + CHOP (R-CHOP) o rituximab + CVP (R-CVP). El interferón está aprobado para el tratamiento inicial de LNH en combinación con agentes alquilantes, pero su uso está limitado en Estados Unidos. La terapia con rituximab ha demostrado ser eficaz en varios tipos de LNH y actualmente está aprobada como un tratamiento de primera línea tanto para el LNH indolente (linfoma folicular) como para el LNH agresivo (linfoma difuso de linfocitos B grandes). Sin embargo, existen limitaciones significativas del anticuerpo monoclonal (mAb) anti-CD20, incluyendo la resistencia primaria (50 % de respuesta en pacientes indolentes recidivantes), la resistencia adquirida (tasa de respuesta del 50 % tras el nuevo tratamiento), respuesta completa rara (tasa de respuesta completa del 2 % en población recidivante) y un patrón continuo de recaída. Finalmente, muchos linfocitos B no expresan CD20 y, por lo tanto, muchos trastornos de linfocitos B no son tratables usando la terapia con anticuerpos anti-CD20.

55 Además del LNH, existen varios tipos de leucemias que son el resultado de la regulación alterada de los linfocitos B. La leucemia linfocítica crónica (también conocida como "leucemia linfoide crónica" o "LLC"), es un tipo de leucemia de adultos causada por una acumulación anormal de linfocitos B. En la LLC, los linfocitos malignos pueden tener un aspecto normal y maduro, pero no pueden hacer frente con eficacia a la infección. La LLC es la forma más común de leucemia en adultos. Los varones tienen el doble de probabilidades de desarrollar LLC que las mujeres. Sin embargo, el factor de riesgo clave es la edad. Más del 75 % de los casos nuevos se diagnostican en pacientes mayores de 50 años. Cada año se diagnostican más de 10.000 casos y la mortalidad es de casi 5.000 al año (American Cancer Society, 2006; y SEER Cancer Statistics Review). La LLC es una enfermedad incurable pero progresa lentamente en la mayoría de los casos. Muchas personas con LLC llevan vidas normales y activas durante muchos años. Debido a

su inicio lento, la LLC en etapa temprana generalmente no se trata, ya que se cree que la intervención temprana en la LLC no mejora el tiempo de supervivencia ni la calidad de vida. En cambio, la afección se controla con el tiempo. Los tratamientos iniciales para la LLC varían según el diagnóstico exacto y la progresión de la enfermedad. Para la terapia de la LLC existen docenas de agentes. Los regímenes combinados de quimioterapia, como FCR (fludarabina, ciclofosfamida y rituximab) y BR (ibrutinib y rituximab), son eficaces tanto en la LLC recién diagnosticada como en la recidivante. El trasplante alogénico de médula ósea (células madre) rara vez se usa como tratamiento de primera línea para la LLC debido a su riesgo.

Otro tipo de leucemia es la leucemia linfoblástica aguda (LLA), también conocida como leucemia linfocítica aguda. La LLA se caracteriza por la sobreproducción y la multiplicación continua de glóbulos blancos malignos e inmaduros (también conocidos como linfoblastos) en la médula ósea. "Agudo" se refiere al estado inmaduro e indiferenciado de los linfocitos circulantes ("blastos") y en que la enfermedad progresa rápidamente con una esperanza de vida de semanas a meses si se deja sin tratar. La LLA es más frecuente en la infancia y su incidencia máxima se produce a los 4-5 años de edad. Los niños de 12 a 16 años mueren más fácilmente que los de otra edad. En la actualidad, al menos el 80 % de la LLA infantil se considera curable. Cada año se diagnostican menos de 4.000 casos y la mortalidad es de casi 1.500 por año (American Cancer Society, 2006; y SEER Cancer Statistics Review).

La molécula CD 19 humana es un receptor de superficie celular estructuralmente distinto expresado en la superficie de los linfocitos B humanos, incluyendo, aunque no de forma limitativa, linfocitos B precursores, linfocitos B en desarrollo temprano (es decir, linfocitos B inmaduros), linfocitos B maduros a través de la diferenciación terminal en células plasmáticas y linfocitos B malignos. El CD 19 es expresado por la mayoría de las leucemias linfoblásticas agudas de linfocitos B precursores (LLA), linfomas no Hodgkin, Leucemias linfocíticas crónicas de linfocitos B (LLC), leucemias pro-linfocíticas, leucemias de células pilosas, leucemias linfocíticas agudas comunes y algunas leucemias linfoblásticas agudas nulas (Nadler y col., J. Immunol., 131: 244-250 (1983), Loken y col., Blood, 70:1316-1324 (1987), Uckun y col., Blood, 71: 13-29 (1988), Anderson y col., 1984. Blood, 63:1424-1433 (1984), Scheuermann, Leuk. Infoma, 18: 385-397 (1995)). La expresión de CD 19 en las células plasmáticas sugiere además que puede expresarse en tumores diferenciados de linfocitos B, tal como el mieloma múltiple, plasmacitomas, los tumores de Waldenstrom (Grossbard y col., Br. J. Haematol, 102:509-15(1998); Treon y col., Semin. Oncol, 30: 248-52 (2003)).

Por tanto, el antígeno CD 19 es un objetivo para la inmunoterapia en el tratamiento del linfoma no Hodgkin (incluidos cada uno de los subtipos descritos en el presente documento), la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda.

Se han demostrado ciertas terapias con CD19. los linfocitos T que expresan un receptor de antígeno quimérico anti-CD19 (CAR) que incluye tanto el dominio coestimulador CD3- ζ como el 4-BB se administraron a tres pacientes con LLC avanzada (Kalos y col., T cells with Chimeric Antigen Receptors Have Potent Antitumor Effects and Can Establish Memory in Patients with Advanced Leukemia, Science Translational Medicine, vol. 3, N-º 95, 10 de agosto de 2011). Sadelain y col., promesa y las posibles dificultades de los receptores de antígeno quimérico, Current Opinion in Immunology, Elsevier, vol. 21, n.º 2, 2 de abril de 2009, también describe los receptores de antígeno quimérico anti-CD19 (CAR). Ni Kalos y col. ni Sadelain y col., sin embargo, describen el anticuerpo específico para CD19 en combinación con un inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton como se ilustra en el presente documento.

El uso de un anticuerpo CD19 en linfomas de linfocitos B no específicos se trata en el documento WO2007076950 (US2007154473) junto con la mención superficial de ibrutinib dentro de una larga lista de posibles parejas de combinación, pero no puede enseñar el anticuerpo ilustrado en el presente documento ni sugerir los efectos sinérgicos de la combinación en el tratamiento del linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda como se ilustra en el presente documento.

El uso de un anticuerpo CD19 en la LLC, el LNH y la LLA se describe en Scheuermann y col., CD19 en diagnóstico de leucemia y linfoma e inmunoterapia, Leukemia and Lymphoma, Vol. 18, 385-397 (1995), pero no sugiere la combinación ilustrada en el presente documento.

Los anticuerpos adicionales específicos para CD19 se describen en los documentos WO2005012493, WO2010053716 (Immunomedics); WO2007002223 (Medarex); WO2008022152 y WO2008150494 (Xencor), WO2008031056 (Medimmune); WO 2007076950 (Merck Patent GmbH); WO 2009/052431 (Seattle Genetics); y WO2010095031 (Glenmark Pharmaceuticals), WO2012010562 y WO2012010561 (International Drug Development), WO2011147834 (Roche Glycart) y WO 2012/156455 (Sanofi).

Las combinaciones de anticuerpos específicos para CD19 y otros agentes se describen en el documento WO2010151341 (The Feinstein Institute); los documentos US5686072 (Universidad de Texas) y WO2002022212 (IDEC Pharmaceuticals), WO2013/024097 (Morpho-Sys AG) y WO2013/024095 (MorphoSys AG).

Ciertos inhibidores de la tirosina quinasa de Bruton están disponibles comercialmente. El ibrutinib, también conocido como PCI-32765, y comercializado con el nombre de Imbruvica es un fármaco contra el cáncer dirigido a tumores malignos de linfocitos B. El ibrutinib se describe en las patentes de Estados Unidos n.º 7,514,444; 8.008.309; 8.697.711; 8.735.403; 8.957.079; y 8.754.090.

El ibrutinib se ha probado en combinación con rituximab (un anticuerpo anti-CD20). Burger y col., Lancet Oncol., 2014

September, 15(19): 1090-1099. El ibrutinib potencialmente inhibe la actividad ADCC de ciertos anticuerpos CD20 *in vitro*. Duong y col., mAbs, Jan/Feb 2015, 192-198, y Kohrt y col., Blood, 2014, 123:1957-1960.

5 Wu y col. (Journal of Hematology & Oncology 2013, 6:36) proporciona una descripción general de los compuestos disponibles para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica y resume los resultados clínicos. Entre otros, se tratan ibrutinib y XmAb5574 (= MOR00208).

Está claro que, a pesar del progreso reciente en el descubrimiento y desarrollo de agentes anticancerosos, muchas formas de cáncer que implican tumores que expresan CD19 todavía tienen un pronóstico desfavorable. Así pues, existe la necesidad de procedimientos mejorados para tratar tales formas de cáncer.

Sumario

10 En la técnica anterior no se sugieren efectos sinérgicos de la combinación del anticuerpo ilustrado e ibrutinib, por sí solo ni combinado, en el tratamiento del linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda.

15 En un aspecto, la presente divulgación se refiere a una combinación sinérgica de un anticuerpo específico para CD19 y un inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton. Tales combinaciones son útiles en el tratamiento de tumores malignos de linfocitos B, tal como, linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda.

Los modelos *in vitro* se consideran indicativos de cómo se comportaría cierto compuesto o combinación de compuestos en seres humanos.

20 Las células MEC-1 en este modelo *in vitro* son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (LLC) en seres humanos. Las células de Ramos en este modelo *in vitro* son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento del linfoma no Hodgkin (LNH) en seres humanos. Las células MEC-1 (DSMZ # ACC497) son una línea celular de leucemia de linfocitos B crónica. Las células de Ramos (número ATCC CRL-1596), células de linfoma de Burkitt humano.

25 Además, cuando los compuestos se combinan *in vitro*, se espera que la combinación solo tenga efectos aditivos. Sorprendentemente, los inventores descubrieron que la combinación de un anticuerpo particular específico para CD19 e ibrutinib mediaba un nivel sinérgico de muerte celular específica *in vitro* en comparación con el anticuerpo e ibrutinib solo. De manera específica, los inventores descubrieron que la combinación de MOR00208 e ibrutinib mediaba un nivel sinérgico de muerte celular específica *in vitro* en células MEC-1 en comparación con el anticuerpo y el ibrutinib por separado.

30 Además, y también inesperadamente, los inventores descubrieron que la combinación de un anticuerpo particular específico para CD19 e ibrutinib tenía ciertas propiedades funcionales, en comparación con el anticuerpo e ibrutinib solo.

35 En resumen, la combinación del anticuerpo anti-CD19 ilustrado e ibrutinib se comportó sinérgicamente en modelos relevantes para la LLC. Dado que la LLC es un trastorno relacionado con los linfocitos B y CD19 se expresa altamente en los linfocitos B, la combinación ilustrada tendría el mismo mecanismo de acción y también debería comportarse sinérgicamente en el tratamiento de otros trastornos relacionados con los linfocitos B, por ejemplo, LLA y LNH.

40 Por tanto, la combinación del anticuerpo ilustrado específico para CD19 e ibrutinib debería ser eficaz en el tratamiento de seres humanos en el linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda. La eficacia esperada de la combinación del anticuerpo específico para CD19 ilustrado e ibrutinib se confirmará en ensayos clínicos.

45 Como el mecanismo de acción de ibrutinib y otros inhibidores de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton son similares, ya que funcionan inhibiendo la enzima proteína tirosina quinasa BTK, que desempeña un papel crucial en el desarrollo de linfocitos B, se cree que también debería verse sinergia cuando se trata a seres humanos con linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda con una combinación del anticuerpo anti-CD19 ilustrado y un inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton distinto de ibrutinib.

Dado que el anticuerpo anti-CD19 ilustrado y otros anticuerpos anti-CD19 se unen a CD19, se cree que también debería verse sinergia cuando se trata a seres humanos con linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda con una combinación de cualquier anticuerpo anti-CD19 ilustrado y un inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton, por ejemplo, ibrutinib.

50 Un aspecto de la divulgación comprende una combinación sinérgica en la que el anticuerpo específico de CD19 comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6) e ibrutinib. En aspectos preferentes, la combinación

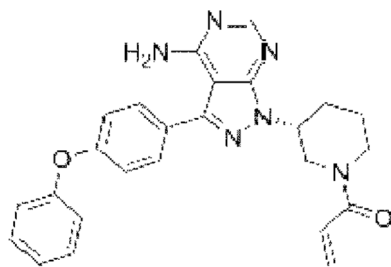
se usa para el tratamiento del linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda.

Descripción de los dibujos

- La **Figura 1** muestra los efectos de citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solos y en combinación en células Ramos. Las células de Ramos se pretrataron con ibrutinib 40 μ M durante 24 horas.
- 5 La **Figura 2** muestra los efectos de citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solos y en combinación en células MEC-1. Las células MEC-1 se pretrataron con ibrutinib 30 μ M durante 24 horas.
- La **Figura 3** muestra los efectos de citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solos y en combinación en células MEC-1. Las células MEC-1 se pretrataron con ibrutinib 30 μ M durante 24 horas.
- La **Figura 4** muestra la secuencia de aminoácidos de los dominios variables de MOR00208.
- 10 La **Figura 5** muestra la secuencia de aminoácidos de las regiones Fc de MOR00208.
- Las **Figuras 6-8** muestran la citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solo y en combinación en la línea celular MEC-1.
- Las **Figuras 9-11** muestran las curvas del índice de combinación de Chou-Talay de MOR00208 e ibrutinib en combinación en la línea celular MEC-1.
- 15 Las **Figuras 12-20** muestran los cálculos de sinergia de Clarke y col., de MOR00208 e ibrutinib en combinación en la línea celular MEC-1.

Descripción detallada de la invención

- "Sinergia", "sinergismo" o "sinérgico" significa más que el efecto aditivo esperado de una combinación. La "sinergia", el "sinergismo" o el efecto "sinérgico" de una combinación se determina en el presente documento mediante los procedimientos de Chou y col., Clarke y col. y/o Webb y col. Véase Ting-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681 (2006). Véase también Clarke y col., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents *in vivo* in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278 (1997). Véase también Webb, J. L. (1963) Enzyme and Metabolic Inhibitors, Academic Press, New York.
- 20 El término "anticuerpo" significa anticuerpos monoclonales, incluyendo cualquier isotipo, tal como, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE. Un anticuerpo IgG se compone de 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 llamados "regiones determinantes de la complementariedad" ("CDR") o "regiones hipervariables", que son los principales responsables de unir un epítipo de un antígeno. Se conocen como CDR1, CDR2 y CDR3, numerados secuencialmente desde el extremo N-terminal. Las porciones más altamente conservadas de las regiones variables fuera de las CDR se denominan "regiones marco". Un "fragmento de anticuerpo" significa un fragmento Fv, scFv, dsFv, Fab, Fab' F(ab')₂ u otro fragmento, que contiene al menos una región variable de la cadena pesada o región variable de la cadena ligera, conteniendo cada una CDR y regiones marco.
- 25 Un "inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton" es una clase de fármaco que funciona inhibiendo la enzima tirosina-proteína quinasa BTK, que desempeña un papel importante en el desarrollo de los linfocitos B. De manera específica, la BTK contiene un dominio de PH que se une a fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PIP3). La unión de PIP3 induce la fosforilación de la fosfolipasa C por la Btk, que, a su vez, hidroliza PIP2, un fosfatidilinositol, en dos segundos mensajeros, inositol trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG), que luego modulan la actividad de las proteínas corriente abajo durante la señalización de los linfocitos B.
- 35 Los inhibidores de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton incluyen ibrutinib. El ibrutinib está comercializado por Pharmacyclics, Inc and Johnson & Johnson's Janssen Pharmaceutical (nombre comercial Imbruvica, también llamado PCI-32765). Ibrutinib está actualmente indicado para el tratamiento de pacientes con linfoma de células del manto (LCM) que han recibido al menos una terapia previa, leucemia linfocítica crónica (LLC) que han recibido al menos una terapia previa, leucemia linfocítica crónica con delección de 17p y macroglobulinemia de Waldenström. La fórmula de ibrutinib es 1-[(3R)-3-[4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidin-1-il]-1-piperidinil]-2-propen-1-ona y tiene la siguiente estructura:
- 40
- 45



El ibrutinib es un inhibidor de molécula pequeña de BTK. El ibrutinib forma un enlace covalente con un resto de cisteína en el sitio activo de BTK, que conduce a la inhibición de la actividad enzimática BTK. La Btk es una molécula de señalización de las vías del receptor de antígeno de linfocitos B (BCR) y del receptor de las citocinas. El papel de la BTK en la señalización a través de los receptores de la superficie de los linfocitos B da como resultado la activación de las rutas necesarias para el tráfico de linfocitos B, la quimiotaxis y la adhesión. Los estudios no clínicos muestran que el ibrutinib inhibe la proliferación y supervivencia de linfocitos B malignos *in vivo*, así como la migración celular y la adhesión del sustrato *in vitro*.

Otros inhibidores de la tirosina quinasa de Bruton (BTK) incluyen:

- 10 ACP-196 (Acerta Pharma BV), que se describe en los documentos WO 2012170976, WO 2013010380 y WO 2014113932; BGB-3111 (BeiGene, Co., Ltd.) y CC-292 Evans y col., 2013

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

- 15 El término "CD19" se refiere a la proteína conocida como CD19, que tiene los siguientes sinónimos: B4, antígeno CD19 de linfocitos B, antígeno B4 de superficie de linfocitos, CVID3, antígeno CD19 de diferenciación, MGC12802 y antígeno Leu-12 de la superficie de linfocitos T.

El CD19 humano tiene la secuencia de aminoácidos de:

```
MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPFLLKLSL
GLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLG
GLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNSQLSQDLTMAPGS
TLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMMETGLLLPRATAQDAGK
YYCHRGNLTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRK
RMTDPTRRFFKVTPPPQSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQA
DGALGSRSPPGVGPVEEEEGEGYEEDSEEDSEFYENDSNLQDQLSQDGSQYENPEDEPLGPE
DEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSWDPSPREATSLGSSQSYEDMRGILYAAPQLR
SIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR. (SEQ ID NO: 7)
```

- 20 "MOR00208" es un anticuerpo anti-CD19. La secuencia de aminoácidos de los dominios variables se proporciona en la Figura 4. La secuencia de aminoácidos de las regiones Fc de cadena pesada y ligera de MOR00208 se proporciona en la Figura 5. "MOR00208" y "XmAb 5574" se usan como sinónimos para describir el anticuerpo que se muestra en las Figuras 4 y 5. El anticuerpo MOR00208 se describe en la patente de Estados Unidos US 8.524.867.

- 25 El documento US 8.524.867 describe el anticuerpo denominado 4G7 H1.52 Hybrid S239D/I332E/4G7 L1.155 (más tarde denominado MOR00208) de la siguiente manera:

> 4G7 H1.52 Híbrido S239D/I332E

EVQLVESGGGLVVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTK
 YNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSAST
 KGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
 VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTL
 MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLN
 GKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
 ESNQGPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
 GK (SEQ ID NO: 14)

> 4G7 L1.155

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLN
 SGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
 QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK
 ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 15)

5 "Región Fc" significa la región constante de un anticuerpo, que en seres humanos puede ser de la subclase IgG1,2, 3, 4 u otras. Las secuencias de regiones Fc humanas están disponibles en IMGT, REGIONES C de IGH humanas, http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/protein/human/IGH/IGHC/Hu_IGHCallgenes.html (recuperado el 16 de mayo de 2011).

"RefmAb33" es un anticuerpo cuya secuencia de aminoácidos es la siguiente:

Cadena pesada que incluye la región Fc:

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGMSVGVIRQPPGKALEWLADIWDDKKH
 YNPSLKDRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGGQTTVTVSSASTKG
 PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV
 PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLN
 GKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQGPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 8)

10

Cadena ligera que incluye la región Fc:

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCSASSRVGYMHWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRF
 SGSGSGTEFTLTSSLQPDFFATYYCFQSGGYPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
 ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYAC
 EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 9)

RefmAb33 es específico para RSV y se usa como control de isotipo, ya que comparte la misma región Fc que MOR00208.

15 Una "combinación" significa más de un artículo, por ejemplo, un compuesto tal como un anticuerpo e ibrutinib.

La presente divulgación también se refiere a combinaciones, productos farmacéuticos y composiciones farmacéuticas que contienen las combinaciones descritas. Los dos componentes de la combinación sinérgica de la presente invención, por ejemplo, el anticuerpo específico para CD19 e ibrutinib, pueden administrarse juntos, simultáneamente, por separado o posteriormente, ya sea físicamente o a tiempo.

20 Ibrutinib se toma actualmente por vía oral y actualmente se dosifica una vez al día. MOR00208 se administra actualmente por vía intravenosa y se dosifica una vez a la semana o una vez cada dos semanas.

Preferentemente, la administración de ambos fármacos permite que ambos fármacos estén activos en la patente al mismo tiempo. Por ejemplo, si MOR208 se dosifica semanalmente e ibrutinib se dosifica diariamente, el principio activo de ambos fármacos está presente en el paciente al mismo tiempo. En una realización, El ibrutinib, se administra antes

y/o por separado de la administración del anticuerpo específico para CD19, por ejemplo, MOR00208.

Simultáneamente significa que los dos componentes se administran en un momento en que ambos componentes (fármacos) están activos en el paciente al mismo tiempo. Con "sinergismo" se implica que ambos fármacos están activos en el paciente al mismo tiempo.

5 Administrado en conjunto puede significar administrado al mismo tiempo.

Los dos componentes pueden formularse en composiciones farmacéuticas diferentes. 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.

10 "Administrado" o "administración" incluye, pero no se limita a los mismos, la administración en forma inyectable, tal como, por ejemplo, una vía intravenosa, intramuscular, intradérmica o subcutánea o vía mucosa, por ejemplo, como aerosol nasal o aerosol para inhalación o como solución ingerible, cápsula o comprimido.

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

20 Las "CDR" en el presente documento están definidas por Chothia y col. o Kabat y col. 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 edición, Publicación del NIH N.º 91-3242, US Dept. of Health and Human Services, Washington, DC.

25 "Competencia cruzada" significa la capacidad de un anticuerpo u otro agente de unión para interferir con la unión de otros anticuerpos o agentes de unión a CD19 en un ensayo de unión competitivo estándar. La capacidad o el grado en que un anticuerpo u otro agente de unión puede interferir con la unión de otro anticuerpo o molécula de unión a CD19, y, por lo tanto, si se puede decir que compite de acuerdo con la invención, puede determinarse usando ensayos de unión de competencia estándar. Un ensayo adecuado implica el uso de la tecnología Biacore (por ejemplo, mediante el uso del instrumento Biacore 3000 (Biacore, Uppsala, Suecia)), que puede medir el alcance de las interacciones utilizando la tecnología de resonancia de plasmón superficial. Otro ensayo para medir la competencia cruzada utiliza un enfoque basado en ELISA. En la solicitud de patente internacional N.º WO 2003/48731 se describe un procedimiento de alto rendimiento para anticuerpos de "unión a epítomos" basado en su competencia cruzada.

35 El término "epítomo" incluye cualquier determinante de proteína capaz de unirse específicamente a un anticuerpo o de otro modo interaccionar con una molécula. Los determinantes epitópicos generalmente consisten en agrupaciones de moléculas de superficie químicamente activas tales como aminoácidos o carbohidratos o cadenas laterales de azúcar y pueden tener características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Un epítomo puede ser "lineal" o "conformacional". El término "epítomo lineal" se refiere a un epítomo con todos los puntos de interacción entre la proteína y la molécula que interacciona (tal como un anticuerpo) que se produce linealmente a lo largo de la secuencia de aminoácidos primaria de la proteína (continua). La expresión "epítomo conformacional" se refiere a un epítomo en el que los aminoácidos discontinuos se unen en conformación tridimensional. En un epítomo conformacional, los puntos de interacción se producen a través de restos de aminoácidos en la proteína que están separados entre sí.

45 "Se une al mismo epítomo que" significa la capacidad de un anticuerpo u otro agente de unión para unirse a CD19 y que tiene el mismo epítomo que el anticuerpo ilustrado. Los epítomos del anticuerpo ilustrado y otros anticuerpos contra CD19 se pueden determinar usando técnicas de mapeo de epítomos estándar. Las técnicas de mapeo de epítomos, bien conocido en la materia incluyen protocolos de mapeo de epítomos en *Methods in Molecular Biology*, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, Nueva Jersey. Por ejemplo, los epítomos lineales pueden determinarse, por ejemplo, la síntesis de manera concurrente de grandes cantidades de péptidos sobre soportes sólidos, correspondiendo los péptidos con porciones de la molécula proteica, y haciendo reaccionar los péptidos con anticuerpos mientras que los péptidos aún están unidos a los soportes. Tales técnicas se conocen en la materia y se describen en, por ejemplo, la patente de Estados Unidos n.º 4.708.871; Geysen y col., (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 8:3998-4002; Geysen y col., (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:78-182; Geysen y col., (1986) *Mol. Immunol.* 23:709-715. De manera similar, los epítomos conformacionales se identifican fácilmente determinando la conformación espacial de los aminoácidos tal como, mediante, por ejemplo, intercambio de hidrógeno/deuterio, cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear bidimensional. Véase, por ejemplo, *Epitope Mapping Protocols*, citado anteriormente. Las regiones antigénicas de las proteínas también pueden identificarse utilizando gráficos de antigenicidad e hidropatía estándar, tales como los calculados usando, por ejemplo, el programa de software Omega versión 1.0 disponible en Oxford Molecular Group. Este programa de ordenador emplea el procedimiento de Hopp/Woods, Hopp y col., (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:3824-3828; para determinar los perfiles de

antigenicidad, y la técnica de Kyte-Doolittle, Kyte y col., (1982) J. Mol. Biol. 157: 105-132; para gráficos de hidropatía.

Realizaciones

Un aspecto de la presente divulgación es una combinación que comprende un anticuerpo específico para CD19 y un inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton para su uso en el tratamiento del linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda.

En el presente documento, la combinación del anticuerpo anti-CD19 ilustrado e ibrutinib se comportó sinérgicamente en modelos *in vitro* relevantes para la LLC. Como la LLC es un trastorno relacionado con los linfocitos B y CD19 se expresa altamente en los linfocitos B, la combinación ilustrada debería tener el mismo mecanismo de acción y también debería comportarse sinérgicamente en el tratamiento de otros trastornos relacionados con los linfocitos B, por ejemplo, LLA y LNH. Por tanto, la combinación del anticuerpo ilustrado específico para CD19 e ibrutinib debería ser eficaz en el tratamiento de seres humanos en el linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda. La eficacia esperada de la combinación del anticuerpo específico para CD19 ilustrado e ibrutinib se confirmará en ensayos clínicos.

Se analizaron células MEC-1 (DSMZ # ACC497), una línea celular de leucemia de linfocitos B crónica. Las células MEC-1 en este modelo *in vitro* son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (LLC) en seres humanos. Los valores del índice de Chou indican una clara sinergia de la combinación de MOR00208 e ibrutinib en la destrucción específica de las células MEC-1 en comparación con MOR00208 e ibrutinib solo.

Se evalúan líneas celulares adicionales: Las células de Ramos (número ATCC CRL-1596), células de linfoma de Burkitt humano. HG-3 (DSMZ # ACC765) y CII (DSMZ # ACC773) son una línea celular de leucemia linfocítica crónica. Su-DHL 6 (DSMZ # ACC572), U2932 (DSMZ # ACC633) y OCI-LY7 (DSMZ # ACC688) son una línea celular de linfoma de linfocitos B grandes difusos (DL-BCL). JVM-2 (ATCC® CRL-3002) es una línea celular de linfoma de células del manto. BALL-1 (DSMZ # ACC742) es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda.

Las células de Ramos en este modelo *in vitro* son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento del linfoma no Hodgkin (LNH) en seres humanos. Las células HG-3 y CII en este modelo *in vitro* son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (LLC) en seres humanos. Las células SU-DHL6, U2932 y OCI-LY7 en este modelo *in vitro* son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento del linfoma no Hodgkin en seres humanos. Las células JVM-2 en este modelo *in vitro* son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento del linfoma no Hodgkin en seres humanos. Las células BALL-1 en este modelo *in vitro* son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda en seres humanos.

En resumen, la combinación del anticuerpo anti-CD19 ilustrado e ibrutinib se comportó sinérgicamente en modelos relevantes para la LLC.

Por tanto, la combinación del anticuerpo ilustrado específico para CD19 e ibrutinib debería ser eficaz en el tratamiento de seres humanos en el linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda.

Como el mecanismo de acción de ibrutinib y otros inhibidores de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton son similares, ya que funcionan inhibiendo la enzima proteína tirosina quinasa BTK, que desempeña un papel crucial en el desarrollo de linfocitos B, se cree que también debería verse sinergia cuando se trata a seres humanos con linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda con una combinación del anticuerpo anti-CD19 ilustrado y un inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton distinto de ibrutinib.

Dado que el anticuerpo anti-CD19 ilustrado y otros anticuerpos anti-CD19 se unen a CD19, se cree que también debería verse sinergia cuando se trata a seres humanos con linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda con una combinación de cualquier anticuerpo anti-CD19 ilustrado y un inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton, en el que el anticuerpo anti-CD19, por ejemplo, se describe en la solicitud de patente de Estados Unidos número de serie 12/377.251 (Xencor), los documentos WO2005012493, WO2010053716 (Immunomedics); WO2007002223 (Medarex); WO2008022152 (Xencor); WO2008031056 (Medimmune); WO 2007/076950 (Merck Patent GmbH); WO 2009/052431 (Seattle Genetics); y WO2010095031 (Glenmark Pharmaceuticals).

En algunos aspectos de la presente divulgación, el anticuerpo específico de CD19 comprende un anticuerpo que compite de forma cruzada con el anticuerpo que comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYIPIT (SEQ ID NO: 6).

En algunos aspectos de la presente divulgación, el anticuerpo específico de CD19 comprende un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo que comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1),

una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6).

5 En realizaciones, el anticuerpo específico de CD19 comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6).

10 En realizaciones, el anticuerpo específico para CD19 comprende una cadena pesada variable de la secuencia EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY NDGTYNEKFQGRVTISDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG QGTLTVSS (SEQ ID NO: 10) y una cadena ligera variable de la secuencia

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 11).

En ciertas realizaciones, dicho anticuerpo comprende un dominio constante de cadena pesada de la secuencia

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAAEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSL
15 SLSPGK (SEQ ID NO: 12).

En realizaciones, el anticuerpo específico para CD19 comprende un dominio constante de la cadena ligera de la secuencia

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC. (SEQ ID NO: 13)

En realizaciones, el inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton es ibrutinib.

20 En realizaciones, los componentes de la combinación, el anticuerpo específico para CD19 e ibrutinib, se administran por separado. En una realización, el ibrutinib se administra antes de la administración del anticuerpo específico para CD19.

25 En realizaciones, los componentes de la combinación se administran en un momento en que ambos componentes (fármacos) están activos en el paciente al mismo tiempo. Con "sinergismo" se implica que ambos fármacos están activos en el paciente al mismo tiempo. En realizaciones, los componentes de la combinación se administran juntos, simultáneamente, por separado o posteriormente, ya sea físicamente o a tiempo. En realizaciones, los componentes de la combinación se administran simultáneamente.

En realizaciones, la combinación es una composición farmacéutica. En realizaciones, la composición comprende un vehículo aceptable. En realizaciones, la combinación se administra en una cantidad efectiva.

30 En otro aspecto, la combinación sinérgica de un anticuerpo específico de CD19 que comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6) e ibrutinib puede participar en la destrucción de las células MEC-
35 1 mediante ADCC en presencia de PBMC humanos aislados con una eficacia al menos dos veces, tres veces, cuatro veces o cinco veces mejor que el ibrutinib por sí solo. triple, cuatro veces o cinco veces mejor eficacia que ibrutinib solo.

Un aspecto de la presente divulgación comprende una combinación sinérgica en la que el anticuerpo específico de

CD19 comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6) e ibrutinib para el tratamiento del linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda. En realizaciones, el linfoma no Hodgkin se selecciona del grupo que consiste en linfoma folicular, linfoma linfocítico pequeño, tejido linfoide asociado a la mucosa, linfocito B grande difuso, de la zona marginal, de Burkitt y de células del manto.

En realizaciones, el linfoma no Hodgkin es linfoma folicular. En realizaciones, el linfoma no Hodgkin es un linfoma linfocítico pequeño. En realizaciones, el linfoma no Hodgkin es tejido linfoide asociado a la mucosa. En realizaciones, el linfoma no Hodgkin es un linfoma de la zona marginal. En realizaciones, el linfoma no Hodgkin es un linfoma difuso de linfocitos B grandes. En realizaciones, el linfoma no Hodgkin es el linfoma de Burkitt. En realizaciones, el linfoma no Hodgkin es el linfoma de células del manto.

En realizaciones, la combinación es para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica. En realizaciones, la combinación es para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda.

Otro aspecto comprende un procedimiento para tratar el linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda en un individuo que lo necesite, en el que el procedimiento comprende la administración de un anticuerpo específico para CD19 y un inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton. En otros aspectos del procedimiento, el anticuerpo específico de CD19 comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). En otros aspectos del procedimiento, el anticuerpo comprende el anticuerpo ilustrado específico para CD19. En otros aspectos del procedimiento, el inhibidor de la tirosina quinasa (BTK) de Bruton es ibrutinib.

Otro aspecto incluye un uso de un anticuerpo específico de CD19 en el que dicho anticuerpo comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6) en la fabricación de un fármaco para el tratamiento del linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda en combinación sinérgica con ibrutinib.

Ejemplos

Ejemplo 1: Citotoxicidad de células MEC-1 usando MOR00208 e ibrutinib solo y en combinación

Materiales

Líneas celulares probadas: Células MEC-1 (DSMZ # ACC497). Las líneas celulares se prueban: línea celular de leucemia crónica de linfocitos B; JVM-2 (ATCC® CRL-3002) una línea celular de linfoma de células del manto; células Ramos (número ATCC CRL-1596), células de linfoma de Burkitt humano; HG-3 (DSMZ # ACC765) y CII (DSMZ # ACC773) son una línea celular de leucemia linfocítica crónica; SuDHL 6 (DSMZ # ACC572), U2932 (DSMZ # ACC633) y OCI-LY7 (DSMZ # ACC688) son una línea celular difusa de linfoma de linfocitos B grandes (DLBCL); JVM-2 (ATCC® CRL-3002) es una línea celular de linfoma de células del manto; y BALL-1 (DSMZ # ACC742) es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda.

Las condiciones de cultivo de las líneas celulares utilizadas están de acuerdo con la información del proveedor.

Medio celular: Medio de Dulbecco modificado de Iscove (IMDM), Invitrogen, N.º de cat.: 31980-048; RPMI1640, Invitrogen, N.º de cat.: 31870-074; GlutaMAX, Invitrogen, N.º de cat.: 35050-38 Número de LOTE: 1504647; FCS: Sigma N.º de cat.: F7524 n.º de lote: 111M3396.

NK: RPMI1640, con GlutaMAX™, Invitrogen, N.º de cat.: 31870-074, 10 % de FCS; Biocoll: Biochrome AG N.º de cat.: L6115 n.º de lote: 0034D; Kit de aislamiento de células MACS NK: Miltenyi Biotec n.º de cat.: 130-092-657 n.º de lote: 5150130115; Ibrutinib: Selleck Chem N.º de lote: S2680; FCS: Sigma N.º de cat.: F7524 n.º de lote: 111M3396; y RefmAb33 (anti-RSV) con la misma región Fc que MOR00208.

Procedimientos

La citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solo y en combinación se analizaron en la línea celular MEC-1 (LLC). La citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solo y en combinación se prueba en las siguientes líneas celulares objetivo: JVM-2, Ramos, HG-3, CII, SU-DHL6, U2932, OCI-LY7, JVM-2 y BALL-1.

Ibrutinib es un inhibidor covalente de la tirosina quinasa de Bruton y debería derogar la proliferación en las líneas celulares diana. MOR00208 se dirige a CD19 y media la muerte de células objetivo a través de ADCC. La muerte de células objetivo se mide utilizando los siguientes parámetros: ibrutinib en un intervalo de concentración entre 0,033 y

33 μ M, específicamente a 0,3 μ M, 1,0 μ M y 3,0 μ M; MOR00208 en un intervalo de concentración de 0,001 - 10 nM, específicamente a 0,01 nM, 0,1 nM y 10 nM, y la combinación de MOR00208 e ibrutinib. Los siguientes se utilizan como controles: Células RefmAb33 o NK solas. En el grupo de ibrutinib, así como en el grupo de combinación MOR00208 + ibrutinib, las células diana se pretratan con ibrutinib durante 7 días antes de las mediciones del ensayo ADCC. Las células objetivo se cuentan y se tiñen usando una concentración final de CFSE de 1 μ g/ml. Para las células objetivo tratadas con DMSO, se elige una relación efector:diana (E: T) de 2:1, correspondiente a una densidad celular de 5×10^5 /ml. El efecto proliferativo sobre las células objetivo causado por el tratamiento con ibrutinib se incluyó ajustando la relación E:T en las células tratadas con inhibidor. Las células NK se cuentan y se ajustan a 1×10^6 /ml. Los ensayos de destrucción de células objetivo se realizaron de la siguiente manera: usando placas de 96 pocillos, se añadieron 100 μ l de suspensión de células diana por pocillo, seguido de 100 μ l de suspensión celular de células NK en cada pocillo, lo que da como resultado una relación E:T de 2:1. Los anticuerpos se diluyeron en un intervalo de 10 - 0,001 nM en medio. Las células se centrifugaron y los sedimentos de objetivo:células efectoras se resuspendieron en medio que contenía 100 μ l de anticuerpo o la solución de control correspondiente. El ensayo se incubó durante 4 horas en una incubadora con CO₂ a 37 °C. Después de 10 minutos de incubación en hielo, se añadieron 50 μ l de solución DAPI a cada pocillo (concentración final de 1 μ g/ml) y se incubaron en hielo durante 10 minutos. Las mediciones de destrucción celular se realizaron con FACS-Verse. Las células objetivo muertas fueron positivas para DAPI.

Los preexperimentos tras los procedimientos descritos anteriormente se completaron tanto con células MEC-1 como con células RAMOS. Las Figuras 1-3 muestran los resultados de los preexperimentos.

Datos

En total, se realizaron tres experimentos para determinar la mediación de ADCC en las células MEC-1 mediante la combinación de MOR00208 e ibrutinib. Las curvas de respuesta a la dosis de ADCC para los Experimentos 1-3 se muestran en las Figuras 6-8.

El porcentaje (%) de células muertas (datos sin procesar) para los Experimentos 1-3 se muestran en las Tablas 1-9 a continuación.

Experimento 1:

Tabla 1 Ibrutinib a 3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
A: Solo MOR00208	73,77	72,31	56,54
B: Ibr solo 3 μM	17,07	17,07	17,07
C: control (0,1 % de DMSO/Ref33)	25,27	25,27	25,27
AB: combinación	88,01	86,59	65,89

Tabla 2 Ibrutinib a 1 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
A: Solo MOR00208	73,77	72,31	56,54
B: Ibr solo 1 μM	24,33	24,33	24,33
C: control (0,1 % de DMSO/Ref33)	25,27	25,27	25,27
AB: combinación	85,48	84,83	62,22

Tabla 3 Ibrutinib a 0,3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
A: Solo MOR00208	73,77	72,31	56,54
B: Ibr solo 0,3 μ M	21,99	21,99	21,99
C: control (0,1 % de DMSO/Ref33)	25,27	25,27	25,27
AB: combinación	80,51	77,08	56,79

Experimento 2:

Tabla 4 Ibrutinib a 3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
A: Solo MOR00208	50,83	52,10	37,57
B: Ibr solo 3 μ M	10,84	10,84	10,84
C: control (0,03 % de DMSO/Ref33)	9,81	9,81	9,81
AB: combinación	66,70	62,47	42,25

Tabla 5 Ibrutinib a 1 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
A: Solo MOR00208	50,83	52,10	37,57
B: Ibr solo 1 μ M	8,39	8,39	8,39
C: control (0,03 % de DMSO/Ref33)	9,81	9,81	9,81
AB: combinación	63,56	63,97	40,84

Tabla 6 Ibrutinib a 0,3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
A: Solo MOR00208	50,83	52,10	37,57
B: Ibr solo 0,3 μ M	8,56	8,56	8,56
C: control (0,03 % de DMSO/Ref33)	9,81	9,81	9,81
AB: combinación	53,41	54,22	34,83

Experimento 3:Tabla 7 Ibrutinib a 3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
A: Solo MOR00208	81,41	81,30	63,68
B: Ibr solo 3 μM	8,26	8,26	8,26
C: control (0,03 % de DMSO/Ref33)	16,40	16,40	16,40
AB: combinación	86,19	86,35	63,10

Tabla 8 Ibrutinib a 1 μ M

Concentración de MOR00208			
10 nM		0,1 nM	0,01 nM
A: Solo MOR00208	81,41	81,30	63,68
B: Ibr solo 1 μM	7,50	7,50	7,50
C: control (0,03 % de DMSO/Ref33)	16,40	16,40	16,40
AB: combinación	88,75	85,58	58,17

Tabla 9 Ibrutinib a 0,3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
A: Solo MOR00208	81,41	81,30	63,68
B: Ibr solo 0,3 μM	8,56	8,56	8,56
C: control (0,03 % de DMSO/Ref33)	16,40	16,40	16,40
AB: combinación	84,17	82,49	55,89

5 Cálculo de sinergia

Los datos sin procesar (% de células muertas) se analizan de la siguiente manera: 1) a partir de los datos sin procesar (% de células muertas), se restan los fondos (controles), lo que da como resultado la muerte específica para cada grupo de tratamiento; luego 2), los valores específicos de muerte se normalizan al establecer la combinación de MOR00208 + Ibrutinib en 1.

- 10 Los cálculos del índice de combinación (IC) se completan para determinar la sinergia de la combinación del anticuerpo anti-CD19 e ibrutinib ilustrados en comparación con MOR00208 e ibrutinib solos. Dichos cálculos se describen en Ting-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681 (2006) y Chou TC, Talalay P, Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 22: 27-55 (1984).
- 15 Los procedimientos de Chou-Talalay se llevan a cabo utilizando el procedimiento CI-isobol.

Ecuación de efecto mediana

- La ecuación de efecto mediana modela el efecto de un inhibidor (tal como un fármaco) como $F_a/F_u = (D/D50)^m$, donde D es la dosis, F_a y F_u es la fracción del sistema afectado y no afectado por la dosis D ($F_a + F_u = 1$); D50 es la dosis que produce el efecto mediana (por ejemplo, CI50, DE50, DL50). La constante m determina la forma de la curva dosis-efecto. Los inventores usaron GraphPad Prism para realizar un cálculo de regresión no lineal para estimar los parámetros m y D50.
- 20

procedimiento de CI-isobol

5 El procedimiento de CI-isobol proporciona una evaluación cuantitativa de la sinergia entre fármacos. Se estima un índice de combinación (IC) a partir de los datos de dosis y efecto de los tratamientos farmacológicos únicos y combinados. Un valor de IC inferior a 1 indica sinergia; IC = 1 indica efecto aditivo; e IC > 1 indica antagonismo. La interacción farmacológica (sinergia o antagonismo) es más pronunciada cuanto más se aleja un valor del ICI de 1.

Formalmente, el índice de combinación (IC) de un tratamiento farmacológico combinado se define como

$$IC = D_1/D_{x1} + D_2/D_{x2}$$

10 En el presente documento, D1 y D2 son las dosis del fármaco 1 y el fármaco 2 de la combinación, respectivamente; y Dx1, y Dx2 es la dosis de un tratamiento con solo el fármaco 1 y el fármaco 2 que darían el mismo efecto que el de la combinación. Las dosis Dx1 y Dx2 deben estimarse a partir de los datos de dosis-efecto de los tratamientos con un solo fármaco. Esencialmente, se ajusta una ecuación del efecto mediana a los datos de cada fármaco. De la ecuación del efecto mediana de un fármaco, se puede estimar la dosis (es decir, D) necesaria para producir un efecto (es decir, Fa, Fu). Cuanto más lejos se encuentra un punto de la línea aditiva, mayor sea la diferencia entre 1 y su IC, así, más fuerte es el efecto (sinérgico o antagonista).

15 Resultados

Las curvas de índice de Chou se muestran en las Figuras 9-11. Los datos de los tres experimentos (a las mismas concentraciones) se fusionaron para producir una curva para cada concentración de ibrutinib.

Los valores del índice de Chou indican una clara sinergia de la combinación de MOR00208 e ibrutinib en la destrucción específica de las células MEC-1 en comparación con MOR00208 e ibrutinib solo.

20 Por tanto, la combinación de MOR00208 e ibrutinib también se comportará sinérgicamente en el tratamiento del linfoma no Hodgkin (LNH), la leucemia linfocítica crónica (LLC) y la leucemia linfoblástica aguda (LLA) en seres humanos.

Análisis adicional

25 Otro enfoque para calcular y comparar los efectos de los agentes individuales cuando se usan en combinación es el concepto de producto fraccional descrito por primera vez por Webb J.L. en "Enzymes and metabolic inhibitors" en 1963. Este procedimiento de análisis considera que los efectos de varios fármacos pueden dirigirse contra la misma fracción celular, siempre y cuando los efectos sean mutuamente no excluyentes, lo cual es cierto para MOR00208 e ibrutinib y, por lo tanto, el efecto combinado medido será menor como la suma teórica de los efectos individuales. El concepto de producto fraccionario afirma, cada vez que dos fármacos matan el 50 % de una fracción de células objetivo, el efecto en combinación solo sería del 75 % (ecuación aplicada: $1 - (1 - 0,5) \times (1 - 0,5) = 0,75$) y no el 100 % esperado, debido a que solo el 50% de las células objetivo siguen siendo viables y susceptibles a uno de los dos fármacos.

Otro enfoque para calcular y comparar los efectos de agentes únicos cuando se usan en combinación es el enfoque de Clarke y col., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents *in vivo* in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278 (1997).

35 El % de células muertas (datos sin procesar) de las Tablas 1-16 se analizó de la siguiente manera:

$$\text{Antagonista } (AB)/C < (A/C) \times (B/C)$$

$$\text{Aditivo } (AB)/C = (A/C) \times (B/C)$$

$$\text{Sinérgico } (AB)/C > (A/C) \times (B/C)$$

40 donde A es el tratamiento con MOR00208 solo; B es el tratamiento con ibrutinib solo; C es la respuesta al control DMSO + RefMab33; AB es la combinación de tratamientos A y B.

Experimento 1

Tabla 10: Análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 1

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
(AB)/C	3,48	3,43	2,61
(A/C)x(B/C)	1,97	1,93	1,51

Este análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 1 también se representa gráficamente en la Figura 12.

Tabla 11: Análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 2

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
(AB)/C	3,38	3,36	2,46
(A/C)x(B/C)	2,81	2,76	2,15

5 Este análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 2 también se representa gráficamente en la Figura 13.

Tabla 12: Análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 3

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
(AB)/C	3,19	3,05	2,25
(A/C)x(B/C)	2,54	2,49	1,95

Este análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 3 también se representa gráficamente en la Figura 14.

Experimento 2

10

Tabla 13: Análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 4

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
(AB)/C	6,80	6,37	4,31
(A/C)x(B/C)	5,73	5,87	4,23

Este análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 4 también se representa gráficamente en la Figura 15.

Tabla 14: Análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 5

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
(AB)/C	6,48	6,52	4,16
(A/C)x(B/C)	4,43	4,54	3,27

15 Este análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 5 también se representa gráficamente en la Figura 16.

Tabla 15: Análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 6

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
(AB)/C	5,44	5,53	3,55
(A/C)x(B/C)	4,52	4,63	3,34

Este análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 6 también se representa gráficamente en la Figura

17.

Experimento 3

Tabla 16: Análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 7

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
(AB)/C	5,26	5,26	3,85
(A/C)x(B/C)	2,50	2,50	1,95

5 Este análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 7 también se representa gráficamente en la Figura 18.

Tabla 17: Análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 8

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
(AB)/C	5,41	5,22	3,55
(A/C)x(B/C)	2,27	2,27	1,78

Este análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 8 también se representa gráficamente en la Figura 19.

Tabla 18: Análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 9

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0,1 nM	0,01 nM
(AB)/C	5,13	5,03	3,41
(A/C)x(B/C)	2,59	2,59	2,03

10 Este análisis de Clarke de los datos que se muestran en la Tabla 9 también se representa gráficamente en la Figura 20.

Resultados de Clarke

15 Los experimentos 1-3 en cada concentración mostraron una clara sinergia de la combinación de MOR00208 + ibrutinib usando los procedimientos de Clarke y col. Los procedimientos de Clarke y col., sin embargo, muestran sinergismo a pesar de que en algunos experimentos, la actividad de ibrutinib fue menor que la del control.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> MorphoSys AG
- <120> Combinaciones y usos de las mismas
- <130> MS230
- 20 <150> EP15196860.9
- <151> 27/11/2015
- <150> EP15169124.3
- <151> 26/05/2015
- <160> 15
- 25 <170> BiSSAP 1.0
- <210> 1
- <211> 5

ES 2 754 431 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 5 <400> 1

Ser	Tyr	Val	Met	His
1				5

 <210> 2
 <211> 6
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 2

Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Gly
1				5	

 15 <210> 3
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Construcción sintética

 <400> 3

Gly	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Thr	Arg	Val	Phe	Asp	Tyr
1				5					10		

 <210> 4
 <211> 16
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 4

Arg	Ser	Ser	Lys	Ser	Leu	Gln	Asn	Val	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Tyr
1				5					10					15	

 30

 <210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 35 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 5

Arg	Met	Ser	Asn	Leu	Asn	Ser
1					5	

 40 <210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>

ES 2 754 431 T3

<223> Construcción sintética

<400> 6

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Ile Thr
1 5

5 <210> 7
<211> 556
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<223> CD19

10 <400> 7

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

ES 2 754 431 T3

Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser
 195 200 205
 Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser
 210 215 220
 Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp
 225 230 235 240
 Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala
 245 250 255
 Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu
 260 265 270
 Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly
 275 280 285
 Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu
 290 295 300
 Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg
 305 310 315 320
 Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val
 325 330 335
 Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu
 340 345 350
 Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala
 355 360 365
 Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp
 370 375 380
 Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly
 385 390 395 400
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu
 405 410 415
 Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu
 420 425 430
 Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly
 435 440 445
 Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu
 450 455 460
 Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser
 465 470 475 480
 Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly
 485 490 495
 Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln
 500 505 510
 Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala
 515 520 525
 Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp
 530 535 540
 Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg
 545 550 555

<210> 8
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Cadena pesada RefMab33

<400> 8

ES 2 754 431 T3

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser

 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

ES 2 754 431 T3

<211> 213
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Cadena ligera RefMab33

<400> 9

```

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

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

<210> 10
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 10

ES 2 754 431 T3

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

<210> 11
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 11

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

<210> 12
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

15

ES 2 754 431 T3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

ES 2 754 431 T3

				165						170										175
Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val					
			180					185					190							
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn					
		195					200					205								
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly					
	210					215					220									
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu					
225					230					235					240					
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr					
			245						250					255						
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn					
			260					265					270							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe					
		275					280					285								
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn					
	290					295					300									
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr					
305					310					315					320					
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys											
				325					330											

<210> 13
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 13

ES 2 754 431 T3

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

Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys
			100						105	

- <210> 14
- <211> 451
- <212> PRT
- 5 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Construcción sintética
- <400> 14

ES 2 754 431 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450

ES 2 754 431 T3

<211> 219
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 15

```

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

REIVINDICACIONES

5 1. Una combinación sinérgica que comprende un anticuerpo específico de CD19 en la que dicho anticuerpo comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6) e ibrutinib para su uso en el tratamiento del linfoma no Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica y/o la leucemia linfoblástica aguda.

10 2. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el anticuerpo comprende una cadena pesada variable de la secuencia EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG QGTLTVSS (SEQ ID NO: 10) y una cadena ligera variable de la secuencia

**DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 11).**

15 3. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que el anticuerpo comprende un dominio constante de la cadena pesada de la secuencia

**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR
VVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 12).**

4. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el anticuerpo comprende un dominio constante de la cadena ligera de la secuencia

**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KD STYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC. (SEQ ID NO: 13)**

20 5. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho anticuerpo específico para CD19 e ibrutinib se administran por separado.

6. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que ibrutinib se administra antes de la administración del anticuerpo específico para CD19.

25 7. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho anticuerpo específico para CD19 e ibrutinib se administran simultáneamente.

8. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho anticuerpo específico para CD19 e ibrutinib se administran en un momento en que ambos fármacos están activos en el paciente al mismo tiempo.

30 9. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica.

10. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda.

35 11. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en el tratamiento del linfoma no Hodgkin, en la que el linfoma no Hodgkin se selecciona del grupo que consiste en linfoma folicular, linfoma linfocítico pequeño, tejido linfoide asociado a la mucosa, linfocito B grande difuso, de la zona marginal, de Burkitt y de células del manto.

12. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el linfoma no Hodgkin es linfoma folicular.
13. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el linfoma no Hodgkin es linfoma difuso de linfocitos B grandes.
- 5 14. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el linfoma no Hodgkin es el linfoma de Burkitt.
15. Una combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el linfoma no Hodgkin es linfoma de células del manto.

Figura 1

Citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solos y en combinación en la línea de células de Ramos

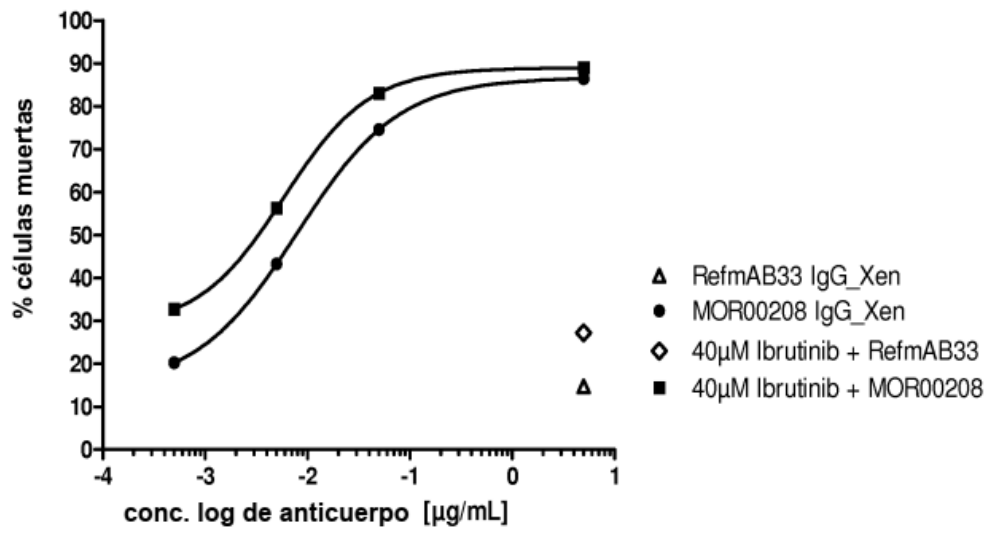


Figura 2

Citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solos y en combinación en la línea celular MEC-1

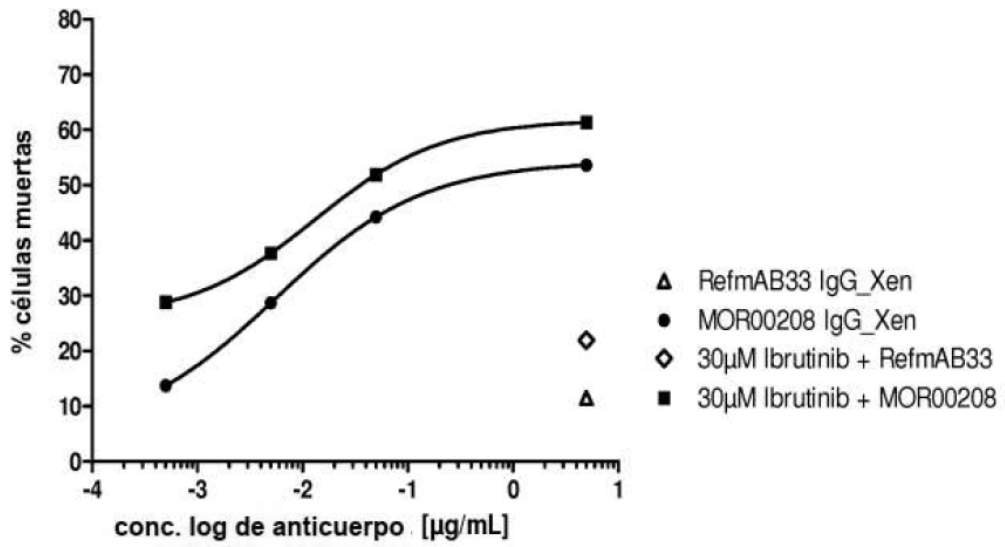


Figura 3

Citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solos y en combinación en la línea celular MEC-1

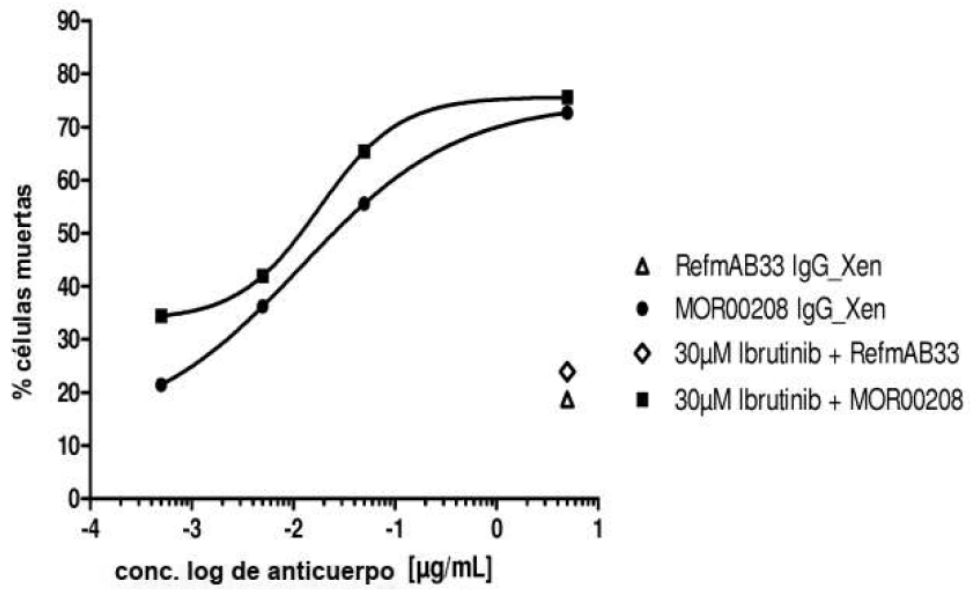


Figura 4

La secuencia de aminoácidos del dominio pesado variable de MOR00208 es:
(las CDR están en negrita y subrayadas)

EVQLVESGGGLV^KPGGSLKLSCAASGYTFT**SYVMHW**VRQAPGKGLEWIGY**INPY**
NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARG**GTYYYYGTRVFDY**WG
QGTLVTVSS (SEQ ID NO: 10)

La secuencia de aminoácidos del dominio ligero variable de MOR00208 es:
(las CDR están en negrita y subrayadas)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSC**RSSKSLQNVNGNTYLY**WFQPKPGQSPQLLIY**R**
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYC**MQHLEYPIT**FGAGTKLEIK (SEQ
ID NO: 11)

La secuencia de aminoácidos de la HCDR1 de MOR00208 es: SYVMH (SEQ ID NO: 1)

La secuencia de aminoácidos de la HCDR2 de MOR00208 es: : NPYNDG (SEQ ID NO: 2)

La secuencia de aminoácidos de la HCDR3 de MOR00208 es: GTYYYYGTRVFDY (SEQ ID
NO: 3)

La secuencia de aminoácidos de la LCDR1 de MOR00208 es: RSSKSLQNVNGNTYLY
(SEQ ID NO: 4)

La secuencia de aminoácidos de la LCDR2 de MOR00208 es: RMSNLNS (SEQ ID NO: 5)

La secuencia de aminoácidos de la LCDR3 de MOR00208 es: MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6)

Figura 5

Secuencia de las regiones FC

La secuencia de aminoácidos de la región Fc de la cadena pesada de MOR00208 es:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPKEETISKTKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 12).

La secuencia de aminoácidos de la región Fc de la cadena ligera de MOR00208 es:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKD STYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)

Figura 6

Citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solos y en combinación en la línea celular MEC-1

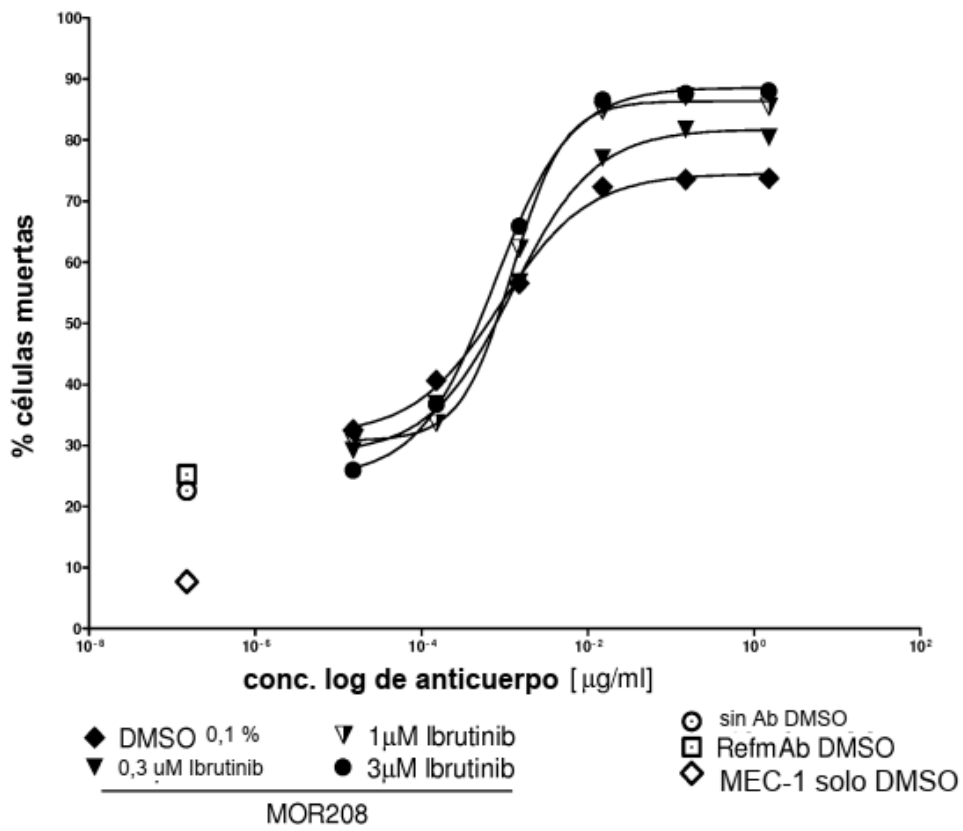


Figura 7

Citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solos y en combinación en la línea celular MEC-1

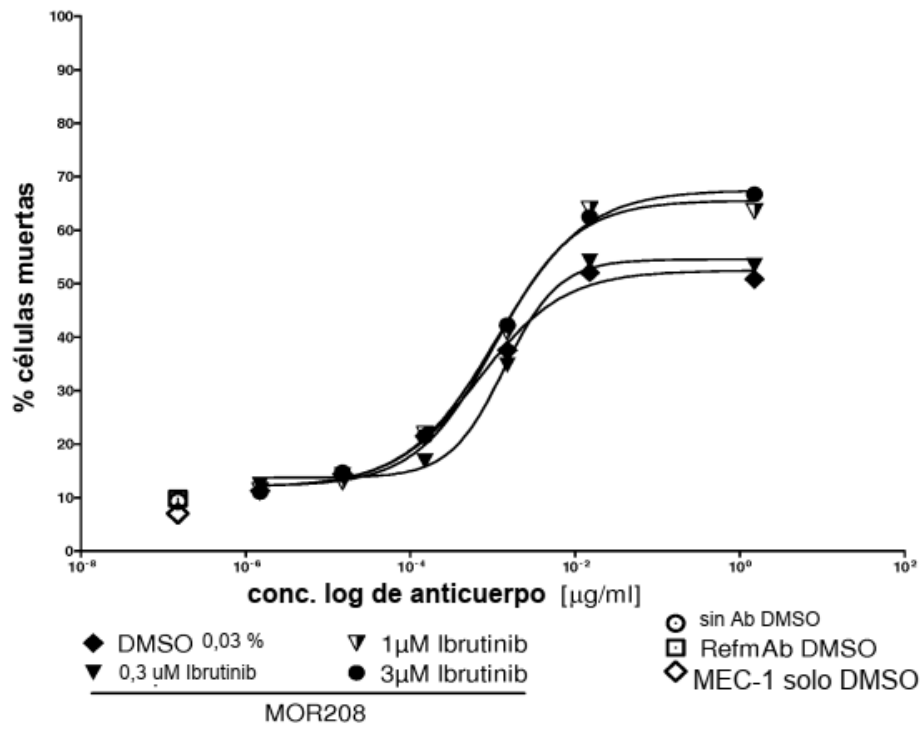


Figura 8

Citotoxicidad de MOR00208 e ibrutinib solos y en combinación en la línea celular MEC-1

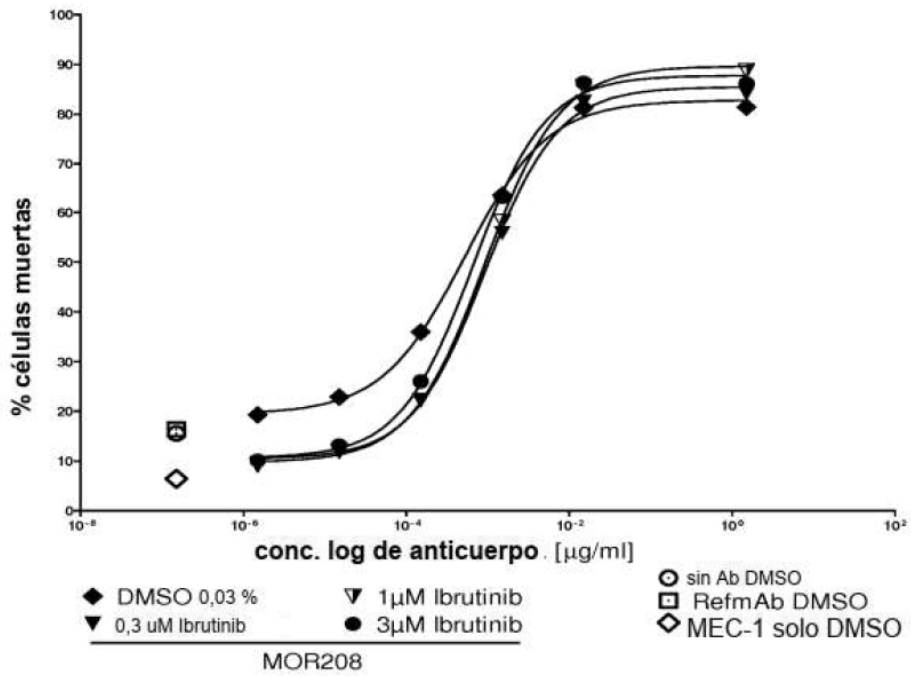


Figura 9

Curvas de IC de Chou Talay

Transformada de IC de MOR208 + 0,3 uM de Ibrutinib

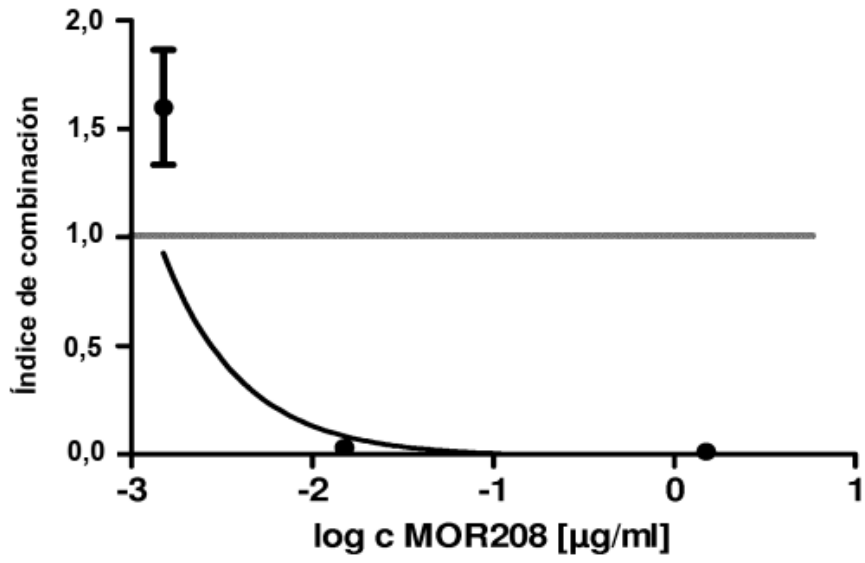


Figura 10

Curvas de IC de Chou Talay

Transformada de IC de MOR208 + 1 uM de Ibrutinib

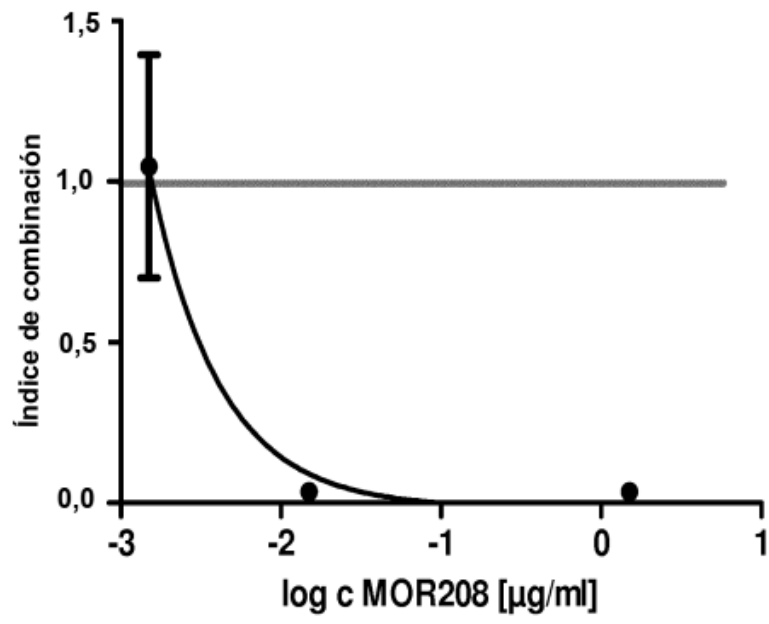


Figura 11

Curvas de IC de Chou Talay

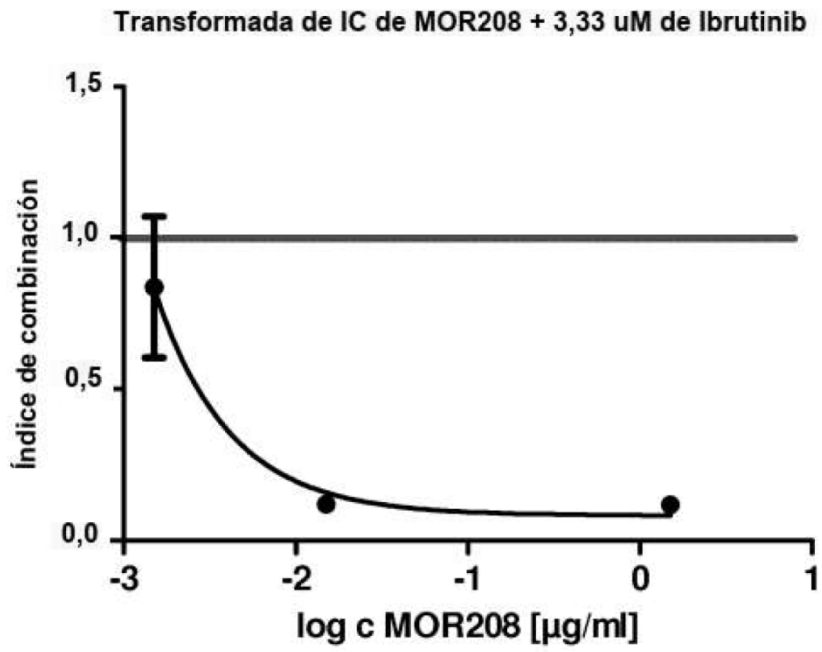


Figura 12

Representación gráfica del análisis de Clarke en la Tabla 10 de los datos mostrados en la Tabla 1

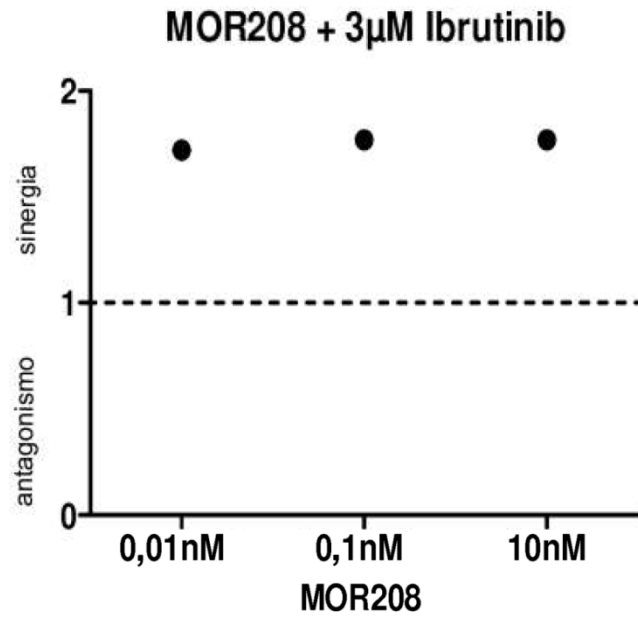


Figura 13

Representación gráfica del análisis de Clarke en la Tabla 11 de los datos mostrados en la Tabla 2.

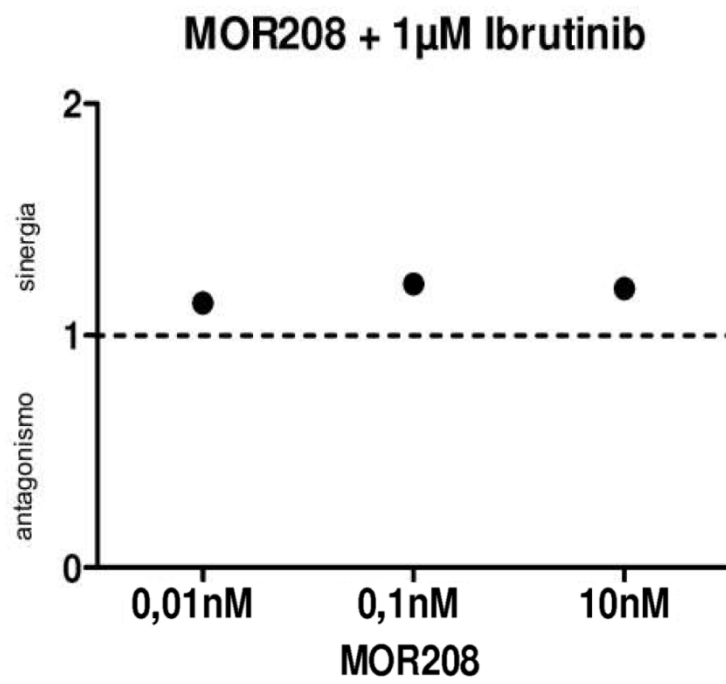


Figura 14

Representación gráfica del análisis de Clarke en la Tabla 12 de los datos mostrados en la Tabla 3

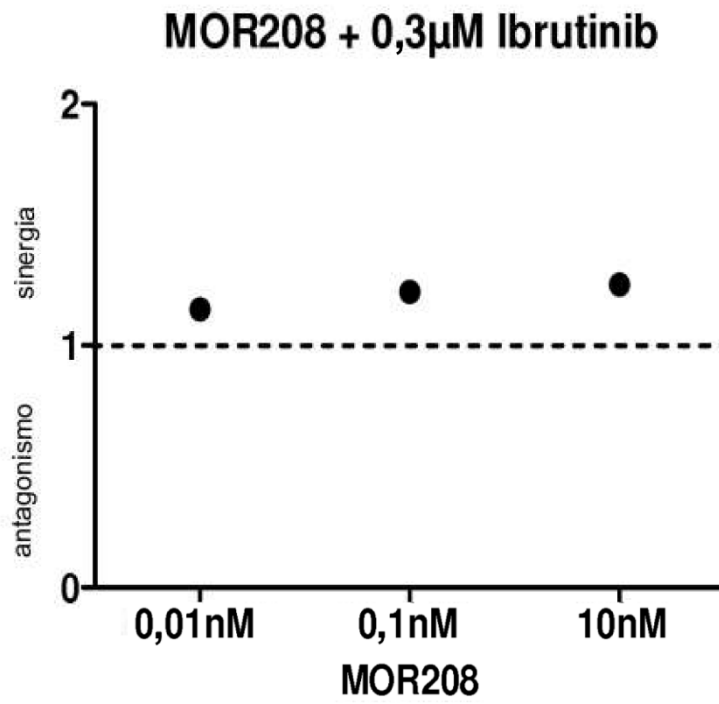


Figura 15

Representación gráfica del análisis de Clarke en la Tabla 13 de los datos mostrados en la Tabla 4

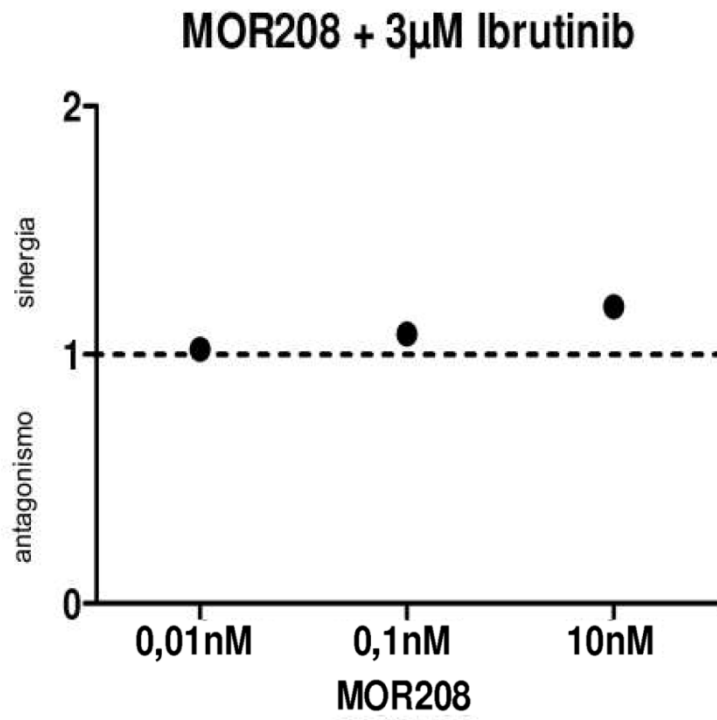


Figura 16

Representación gráfica del análisis de Clarke en la Tabla 14 de los datos mostrados en la Tabla 5

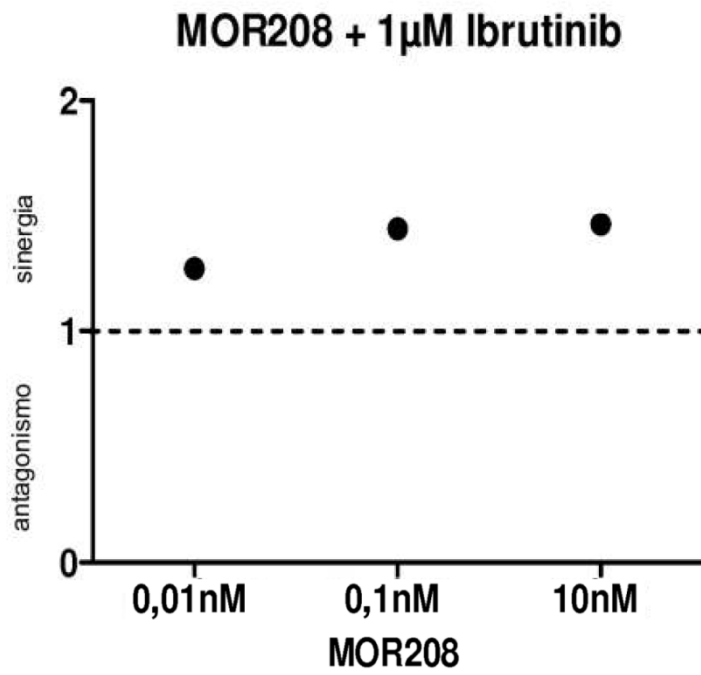


Figura 17

Representación gráfica del análisis de Clarke en la Tabla 15 de los datos mostrados en la Tabla 6

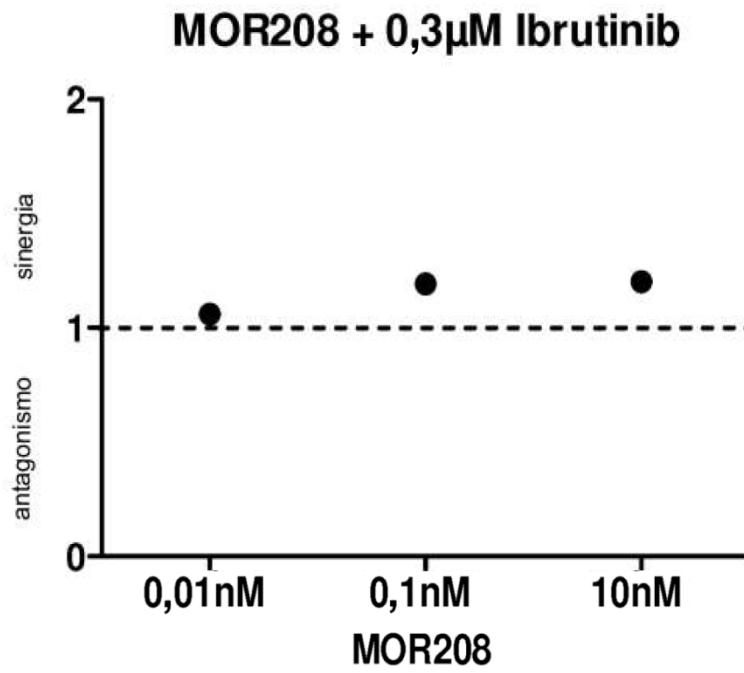


Figura 18

Representación gráfica del análisis de Clarke en la Tabla 16 de los datos mostrados en la Tabla 7

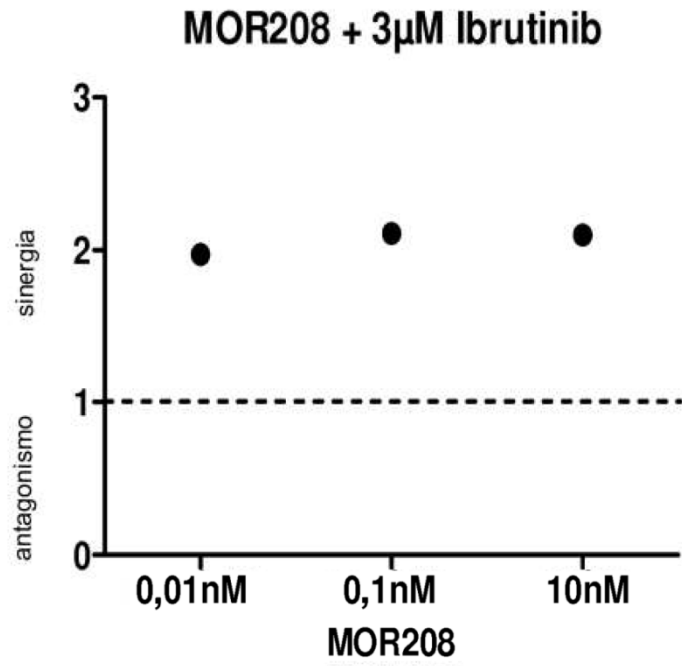


Figura 19

Representación gráfica del análisis de Clarke en la Tabla 17 de los datos mostrados en la Tabla 8

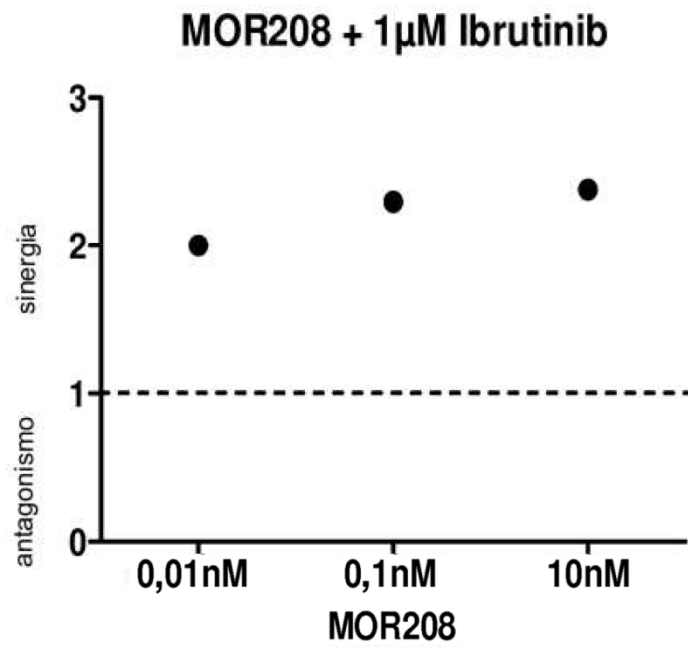


Figura 20

Representación gráfica del análisis de Clarke en la Tabla 18 de los datos mostrados en la Tabla 9

