

[illegible]

## “TERAPIA DE COMBINAÇÃO”

### REFERÊNCIA REMISSIVA A PEDIDOS DE PATENTE CORRELATOS

[001] Este pedido reivindica o benefício de GB1706261.3, GB1706260.5, GB1706259.7, GB1706258.9, GB1706257.1, GB1706256.3, GB1706254.8, e GB1706253.0, todos depositados em 20 de abril de 2017; GB1802947.0 depositado em 23 de fevereiro de 2018; e GB1805660.6 depositado em 5 de abril de 2018.

### CAMPO

[002] A presente divulgação refere-se a terapias de combinação para o tratamento de condições patológicas, como câncer. Em particular, a presente divulgação refere-se a terapias de combinação compreendendo tratamento com um Conjugado de Fármaco e Anticorpo (ADC), um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20.

### ANTECEDENTES

#### Terapia com Anticorpos

[003] A terapia com anticorpos foi estabelecida para o tratamento direcionado de indivíduos com câncer, distúrbios imunológicos e angiogênicos (Carter, P. (2006) *Nature Reviews Immunology* 6: 343-357). O uso de conjugados anticorpo-fármaco (ADC), ou seja, imunoconjugados, para a entrega local de agentes citotóxicos ou citostáticos, ou seja, fármacos para matar ou inibir células tumorais no tratamento de câncer, tem como alvo a entrega da porção de fármaco a tumores e acúmulo intracelular enquanto que a administração sistêmica desses agentes não conjugados pode resultar em níveis inaceitáveis de toxicidade para células normais (Xie *et al* (2006) *Especialista. Opin. Biol. Ther.* 6 (3): 281-291; Kovtun *et al* (2006) *Cancer Res.* 66 (6): 3214-3121; Lei *et al* (2006) *Cancer Res.* 66 (4): 2328-2337; Wu *et al* (2005) *Nature Biotech.* 23 (9): 1137-1145; Lambert J. (2005) *Opinião Atual. em Pharmacol.* 5: 543-549; Hamann P. (2005) *Opinião de especialista. Ther. Patentes* 15 (9): 1087-1103; Payne, G. (2003) *Célula cancerígena* 3: 207-212; Trilha *et al* (2003) *Cancer*

*Immunol. Immunother.* 52: 328-337; Syrigos e Epenetos (1999) *Pesquisa anticâncer* 19: 605-614).

### CD19

[004] O CD19 é um receptor de membrana de 95 kDa que é expresso precocemente na diferenciação de células B e continua a ser expresso até que as células B sejam acionadas para se diferenciarem terminalmente (Pezzutto et al.(1987), *J. Immunol* 138:2793; Tedder et al (1994) *Immunol. Today* 15:437). O domínio extracelular CD19 contém dois domínios do tipo imunoglobulina (IG) do tipo C2 separados por um domínio menor potencialmente ligados a dissulfeto. O domínio citoplasmático CD19 é estruturalmente único, mas altamente conservado entre humanos, camundongos e cobaias (Fujimoto et al., (1998) *Semin Immunol.*10: 267). O CD19 faz parte de um complexo proteico encontrado na superfície celular dos linfócitos B. O complexo proteico inclui CD19, CD21 (receptor do complemento, tipo 2), CD81 (TAPA-1) e CD225 (Leu-13) (Fujimoto, supra).

[005] CD19 é um importante regulador dos sinais transmembranares nas células B. Um aumento ou diminuição na densidade da superfície celular de CD19 afeta o desenvolvimento e a função das células B, resultando em doenças como autoimunidade ou hipogamaglobulinemia. O complexo CD19 potencializa a resposta das células B ao antígeno *in vivo* através da reticulação de dois complexos de transdução de sinal separados encontrados nas membranas das células B. Os dois complexos de transdução de sinal, associados à membrana IgM e CD19, ativam a fosfolipase C (PLC) por diferentes mecanismos. A reticulação de receptores de células CD19 e B reduz o número de moléculas de IgM necessárias para ativar o PLC. O CD19 também funciona como uma proteína adaptadora especializada para a amplificação das quinases da família Arc (Hasegawa et al, (2001) *J Immunol* 167: 3190).

[006] Foi demonstrado que a ligação a CD19 melhora e inibe a ativação e

proliferação de células B, dependendo da quantidade de reticulação que ocorre (Tedder, 1994, Immunol. Today 15:437). CD19 é expresso em mais de 90% dos linfomas de células B e foi previsto que afeta o crescimento de linfomas *in vitro* e *in vivo*.

#### Usos terapêuticos de ADCs anti-CD19

[007] Foi estabelecida a eficácia de um Conjugado de Fármaco e Anticorpo compreendendo um anticorpo anti-CD19 (um anti-CD19-ADC) no tratamento de, por exemplo, câncer - veja, por exemplo, os documentos WO2014/057117 e WO2016/166298.

[008] A pesquisa continua a melhorar ainda mais a eficácia, tolerabilidade e utilidade clínica dos ADCs anti-CD19. Para este fim, os presentes autores identificaram terapias de combinação clinicamente vantajosas nas quais um ADC anti-CD19 é administrado em combinação com pelo menos um agente secundário.

#### CD22

[009] CD22 é uma sialoglicoproteína transmembranar de 135-KDa tipo I da superfamília de imunoglobulina (Ig). A expressão de CD22 é específica das células B e é regulada pelo desenvolvimento, de modo que a expressão é limitada nas células pró-B e pré-B (Dorner & Goldenberg, 2007, Ther Clin Risk Manag 3: 954-59). À medida que as células B amadurecem, a expressão aumenta e a localização do CD22 muda para a superfície celular (Dorner & Goldenberg, 2007). O CD22 é fortemente expresso nas células foliculares, do manto e da zona marginal B, mas está fracamente presente nas células B germinais (Dorner & Goldenberg, 2007). CD22 é um co-receptor inibidor que inframodula a sinalização do receptor de células B (BCR), definindo um limiar de sinalização que impede a superestimulação das células B (Nitschke, 2005, Curr Opin Immunol 17:290-97).

[010] Anticorpos contra CD22, como epratuzumabe (hLL2), têm sido utilizados no tratamento de uma variedade de cânceres e doenças autoimunes, incluindo, entre

outros, leucemia linfoblástica aguda (Hoelzer et al., 2013, *Curr Opin Oncol* 25: 701-6), leucemia linfocítica crônica (Macromatis & Cheson, 2004, *Blood Rev* 18:137- 48), linfoma não Hodgkin (Leonard et al., 2004, *Clin Cancer Res* 10: 5327-34; Dorner & Goldenberg, 2007), linfoma folicular (Illidge & Morchhauser, 2011, *Best Pract Res Clin Haematol* 24: 279-93), linfoma difuso células B grandes (Micallef et al., 2011, *Blood* 118: 4053-61), linfoma de células do manto (Sharkey et al., 2012, *Mol Cancer Ther* 11: 224-34), lúpus eritematoso sistêmico (Dorner & Goldenberg, 2007; Strand et al., 2013, *Reumatology*, 22 de novembro de 2013; Epub à frente da impressão; Wallace & Goldenberg, 2013, *Lupus* 22:400-5; Wallace et al., 2013, *Rheumatology* 52: 1313-22; Wallace et al., 2014, *Ann Rheum Dis* 73: 183-90) e síndrome de Sjögren primária (Steinfeld et al., 2006, *Arthritis Res Ther* 8:R129; Dorner & Goldenberg, 2007). Atualmente, está em andamento um estudo clínico de fase III do epratuzumabe no lúpus eritematoso sistêmico (ver, por exemplo, [ClinicalTrials.gov](http://ClinicalTrials.gov), “Study of Epratuzumabe versus Placebo in Subjects with Moderate to Severe General Systemic Lupus Erythematosus (EMBODY 1)”). Como o CD22 regula as funções e a sobrevivência das células B, ele é um elo importante para modular a imunidade humoral e a proliferação de linfomas de células B e um alvo para anticorpos terapêuticos no câncer e nas doenças autoimunes (Dorner & Goldenberg, 2007)

#### Usos terapêuticos de ADCs anti-CD22

[011] A eficácia de um Conjugado de Fármaco e Anticorpo compreendendo um anticorpo anti-CD22(um ADC anti-CD22) no tratamento de, por exemplo, câncer foi estabelecida-ver, por exemplo, WO2014/057122 e WO2016/166307, ou como descrito em Kantarjian et al., (2016, *New Eng J Med*).

[012] A pesquisa continua a melhorar ainda mais a eficácia, tolerabilidade e utilidade clínica dos ADCs anti-CD22. Para esse fim, os presentes autores identificaram terapias de combinação clinicamente vantajosas nas quais um ADC anti-CD22 é administrado em combinação com pelo menos um agente secundário.

## SUMÁRIO

[013] Os presentes autores determinaram ainda que a administração de uma combinação de um ADC e um agente secundário a um indivíduo que foi tratado ou está sendo tratado com e o agente anti-CD20 leva a um aumento sinérgico na eficácia do tratamento.

[014] Em casos um ADC é administrado em combinação com agente anti-CD20 como um agente secundário. Isto é, é contemplado que uma combinação de [ADC + agente anti-CD20] é administrada ao indivíduo em combinação.

[015] Em alguns casos, um ADC é administrado em combinação com o agente anti-CD20 como um agente terciário, em combinação adicional com um agente secundário como descrito aqui (tal como um inibidor da Tirosina Cinase de Bruton (BTKi), um antagonista de PD1, um antagonista de PD-L1, um agonista de GITR, um agonista de OX40, um antagonista de CTLA-4, Fludarabina ou Citarabina, um agente de hipometilação ou um agente que suprarregula expressão de HER2). Isto é, é contemplado que uma combinação de [ADC + agente secundário + anti-CD20] é administrada ao indivíduo em combinação.

[016] Por conseguinte, em um primeiro aspecto, a presente divulgação fornece um método para selecionar um indivíduo como adequado para tratamento com uma combinação de um ADC e um agente secundário, em que o indivíduo é selecionado para tratamento com a combinação de um ADC e um agente secundário se o indivíduo tiver sido tratado, ou estiver sendo tratado, com um agente anti-CD20. O indivíduo pode ser selecionado para tratamento se o indivíduo for refratário a tratamento, ou tratamento adicional, com o agente anti-CD20.

[017] Em outro aspecto, a presente divulgação fornece um método para tratar um distúrbio em um indivíduo, o método compreendendo selecionar um indivíduo como adequado para tratamento por um método do primeiro aspecto e, então, administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de uma combinação de um ADC e um

agente secundário. O método de tratamento pode ainda compreender administrar um agente anti-CD20 em combinação com a combinação de um ADC e um agente secundário.

1.-----

[018] Os presente autores determinaram que a administração de uma combinação de um ADC, um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20 a um indivíduo leva a vantagens clínicas inesperadas.

[019] Em outro aspecto, a divulgação fornece um método para tratar um distúrbio em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um ADC, um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20. O indivíduo pode ser selecionado para tratamento de acordo com um método de acordo com o primeiro aspecto.

[020] O distúrbio pode ser uma doença proliferativa, por exemplo, um câncer, tal como, Linfoma não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular, (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), tal como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph+ALL) ou ALL negativa para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL).

[021] O ADC pode ser anti-CD19-ADC, tal como ADCX19 descrito aqui.

[022] O ADC pode ser anti-CD22-ADC, tal como ADCX22 descrito aqui.

[023] O agente secundário pode ser um ser um inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi), antagonista de PD1, um antagonista de PD-L1, um agonista de GITR, um agonista de OX40, um antagonista de CTLA-4, Fludarabina ou Citarabina, um agente hipometilante, um agente que sobrerregula a expressão de HER2, ou um agente anti-CD20.

[024] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma

neoplasia compreendendo células CD19+ve e CD19-ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD22+ve e CD22-ve.

[025] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD19-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD19-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD19+ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD22-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD22-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD22 + ve.

[026] O indivíduo pode ser humano. O indivíduo pode ter câncer ou pode ter sido determinado como tendo câncer. O indivíduo pode ter, ou foi determinado como tendo, um câncer CD19+ ou células não tumorais associadas ao tumor CD19+, tais como células B infiltrantes CD19+. O indivíduo pode ter, ou foi determinado como tendo, um câncer CD22+ ou células não tumorais associadas ao tumor CD22+, tais como células B infiltrantes CD22+.

[027] O câncer alvo ou células de câncer podem ser todo ou parte de um tumor sólido.

[028] "Tumor sólido" neste documento será entendido como incluindo cânceres hematológicos sólidos, como linfomas (linfoma de Hodgkin ou linfoma não-Hodgkin), os quais são discutidos em mais detalhes aqui.

[029] Por exemplo, o tumor sólido pode ser um tumor com altos níveis de células T infiltrantes, como células T reguladoras infiltrantes (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 2017 Jan; 27(1):109-118). Portanto, o tumor sólido pode ser câncer pancreático, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não



pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça e pescoço.

[030] Nos métodos divulgados o ADC pode ser administrado antes do agente secundário, simultaneamente com o agente secundário ou após o agente secundário. O ADC e o agente secundário podem ser administrados antes do agente anti-CD20, simultaneamente com o agente anti-CD20, ou após o agente anti-CD20. Os métodos divulgados podem compreender administrar um agente quimioterápico adicional ao indivíduo.

[031] Em um aspecto a presente divulgação fornece um agente anti-CD20, ou uma composição compreendendo um agente anti-CD20, para uso em um método de tratamento como descrito aqui.

[032] Em um aspecto adicional, a presente divulgação fornece o uso de um agente anti-CD20 na fabricação de um medicamento para tratar um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende um método de tratamento como descrito aqui.

-----

[033] Em outro aspecto, a divulgação fornece uma primeira composição compreendendo um ADC para uso em um método de tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende a administração da primeira composição em combinação com uma segunda composição compreendendo um agente secundário, e, opcionalmente, em combinação com uma terceira composição compreendendo um agente anti-CD20.

[034] Também é fornecida por este aspecto uma primeira composição compreendendo um agente secundário para uso em um método de tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende a administração da primeira composição em combinação com uma segunda composição compreendendo um ADC, e, opcionalmente, em combinação com uma terceira composição

compreendendo um agente anti-CD20.

[035] O distúrbio pode ser uma doença proliferativa, por exemplo, um câncer, tal como Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular, (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph+ALL) ou ALL negativo para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL).

[036] O câncer alvo ou células de câncer podem ser todo ou parte de um tumor sólido.

[037] "Tumor sólido" neste documento será entendido como incluindo cânceres hematológicos sólidos, como linfomas (linfoma de Hodgkin ou linfoma não-Hodgkin), os quais são discutidos em mais detalhes aqui.

[038] Por exemplo, o tumor sólido pode ser um tumor com altos níveis de células T infiltrantes, como células T reguladoras infiltrantes (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 27 de Jan de 2017; 27(1):109-118). Portanto, o tumor sólido pode ser câncer pancreático, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça e pescoço.

[039] O ADC pode ser anti-CD19-ADC, como o ADCX19 aqui descrito.

[040] O ADC pode ser anti-CD22-ADC, como o ADCX22 aqui descrito.

[041] O agente secundário pode ser um ser um inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi), antagonista de PD1, um antagonista de PD-L1, um agonista de GITR, um agonista de OX40, um antagonista de CTLA-4, Fludarabina ou citarabina, um agente hipometilante, um agente que sobrerregula a expressão de HER2, ou um

agente anti-CD20.

[042] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD19+ve e CD19-ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD22+ve e C22-ve.

[043] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD19-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD19-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD19+ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD22-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD22-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD22 + ve.

[044] O indivíduo pode ser humano. O indivíduo pode ter câncer ou pode ter sido determinado como tendo câncer. O indivíduo pode ter, ou foi determinado como tendo, um câncer CD19+ ou células não tumorais associadas ao tumor CD19+, tais como células B infiltrantes CD19+. O indivíduo pode ter, ou foi determinado como tendo, um câncer CD22+ ou células não tumorais associadas ao tumor CD22+, tais como células B infiltrantes CD22+.

[045] A primeira composição pode ser administrada antes da segunda composição, simultaneamente com a segunda composição ou após a segunda composição. O ADC e o agente secundário podem ser administrados antes do agente anti-CD20, simultaneamente com o agente anti-CD20 ou após o agente anti-CD20. O tratamento pode compreender a administração de um agente quimioterapêutico adicional ao indivíduo.

-----

[046] Em outro aspecto, a divulgação fornece o uso de um ADC na fabricação de um medicamento para tratar um distúrbio em um indivíduo, em que o medicamento

compreende um ADC e em que o tratamento compreende administração do medicamento em combinação com uma composição compreendendo um agente secundário, e, opcionalmente, em combinação com uma terceira composição compreendendo um agente anti-CD20.

[047] Também é fornecido por este aspecto o uso de um agente secundário na fabricação de um medicamento para tratar um distúrbio em um indivíduo, em que o medicamento compreende um agente secundário e em que o tratamento compreende administração do medicamento em combinação com uma composição compreendendo um ADC, e, opcionalmente, em combinação com uma terceira composição compreendendo um agente anti-CD20.

[048] O distúrbio pode ser uma doença proliferativa, por exemplo, um câncer, tal como Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular, (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph+ALL) ou ALL negativo para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL).

[049] O câncer alvo ou células de câncer podem ser todo ou parte de um tumor sólido.

[050] "Tumor sólido" neste documento será entendido como incluindo cânceres hematológicos sólidos, como linfomas (linfoma de Hodgkin ou linfoma não-Hodgkin), os quais são discutidos em mais detalhes aqui.

[051] Por exemplo, o tumor sólido pode ser um tumor com altos níveis de células T infiltrantes, como células T reguladoras infiltrantes (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 27 de Jan de 2017; 27(1):109-118). Portanto, o tumor sólido pode ser câncer pancreático, câncer de mama, câncer colorretal, câncer

gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça e pescoço.

[052] O ADC pode ser anti-CD19-ADC, como o ADCX19 aqui descrito.

[053] O ADC pode ser anti-CD22-ADC, como o ADCX22 aqui descrito.

[054] O agente secundário pode ser um ser um inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi), antagonista de PD1, um antagonista de PD-L1, um agonista de GITR, um agonista de OX40, um antagonista de CTLA-4, Fludarabina ou citarabina, um agente hipometilante, um agente que sobrerregula a expressão de HER2, ou um agente anti-CD20.

[055] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD19+ve e CD19-ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD22+ve e C22-ve.

[056] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD19-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD19-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD19+ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD22-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD22-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD22 + ve.

[057] O indivíduo pode ser humano. O indivíduo pode ter câncer ou pode ter sido determinado como tendo câncer. O indivíduo pode ter, ou foi determinado como tendo, um câncer CD19+ ou células não tumorais associadas ao tumor CD19+, tais como células B infiltrantes CD19+. O indivíduo pode ter, ou foi determinado como tendo, um câncer CD22+ ou células não tumorais associadas ao tumor CD22+, tais como células B infiltrantes CD22+.

[058] O medicamento pode ser administrado antes da composição, simultaneamente com a composição ou após a composição. O ADC e o agente secundário podem ser administrados antes do agente anti-CD20, simultaneamente com o agente anti-CD20 ou após o agente anti-CD20. O tratamento pode compreender a administração de um agente quimioterapêutico adicional ao indivíduo.

[059] -----

[060] Outro aspecto da divulgação fornece um kit que compreende:

um primeiro medicamento compreendendo um ADC;

um segundo medicamento compreendendo um agente secundário; e, opcionalmente,

(i) um terceiro medicamento compreendendo um agente anti-CD20 e/ou

(ii) uma bula que compreende instruções para administração do primeiro medicamento a um indivíduo em combinação com o segundo medicamento e, opcionalmente, em combinação adicional com o terceiro medicamento, se presente, para o tratamento de um distúrbio.

[061] Também é fornecido por este aspecto um kit compreendendo um medicamento compreendendo um ADC e uma bula compreendendo instruções para administração do medicamento a um indivíduo em combinação com uma composição compreendendo um agente secundário e, opcionalmente, em combinação adicional com um agente anti-CD20, para o tratamento de um distúrbio.

[062] Além disso, é fornecido por este aspecto um kit que compreende um medicamento que compreende um agente secundário e uma bula que compreende instruções para administração do medicamento a um indivíduo em combinação com uma composição que compreende um ADC e, opcionalmente, em combinação adicional com um agente anti-CD20, para o tratamento de um distúrbio.

[063] O distúrbio pode ser uma doença proliferativa, por exemplo, um câncer como Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B

grandes (DLBCL), linfoma folicular, (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph+ALL) ou ALL negativo para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL).

[064] O câncer alvo ou células de câncer podem ser todo ou parte de um tumor sólido.

[065] "Tumor sólido" neste documento será entendido como incluindo cânceres hematológicos sólidos, como linfomas (linfoma de Hodgkin ou linfoma não-Hodgkin), os quais são discutidos em mais detalhes aqui.

[066] Por exemplo, o tumor sólido pode ser um tumor com altos níveis de células T infiltrantes, como células T reguladoras infiltrantes (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 27 de Jan de 2017; 27(1):109-118). Portanto, o tumor sólido pode ser câncer de pâncreas, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça e pescoço.

[067] O ADC pode ser anti-CD19-ADC, como o ADCX19 aqui descrito

[068] O ADC pode ser anti-CD22-ADC, como o ADCxCD22 aqui descrito.

[069] O agente secundário pode ser um inibidor de tirosina cinase de Bruton (BTKi), um antagonista de PD1, um antagonista de PD-L1, um agonista de GITR, um agonista de OX40, um antagonista de CTLA-4, Fludarabina ou citarabina, um agente hipometilante, um agente que sobrerregula a expressão de HER2, ou um agente anti-CD20.

[070] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD19+ve e CD19-ve. A doença proliferativa pode

ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD22+ve e C22-ve.

[071] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD19-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD19-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD19+ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD22-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD22-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD22+ve.

[072] O indivíduo pode ser humano. O indivíduo pode ter câncer ou pode ter sido determinado como tendo câncer. O indivíduo pode ter, ou foi determinado como tendo, um câncer CD19+ ou células não tumorais associadas ao tumor CD19+, tal como células B infiltrantes CD19+. O indivíduo pode ter, ou foi determinado como tendo, um câncer CD22+ ou células não tumorais associadas ao tumor CD22+, tais como células B infiltrantes CD22+.

[073] O medicamento ou composição compreendendo o ADC pode ser administrado antes do medicamento ou composição que compreende o agente secundário, simultaneamente com o medicamento ou composição que compreende o agente secundário, ou após o medicamento ou composição que compreende o agente secundário. O ADC e o agente secundário podem ser administrados antes do agente anti-CD20, simultaneamente com o agente anti-CD20 ou após o agente anti-CD20. O tratamento pode compreender a administração de um agente quimioterapêutico adicional ao indivíduo.

-----

[074] Ainda em um aspecto adicional, a divulgação fornece uma composição que compreende um ADC, um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20.



[075] Também é fornecido neste aspecto da divulgação um método de tratamento de um distúrbio em um indivíduo, o método compreendendo a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz da composição compreendendo um ADC, um agente secundário, e, opcionalmente, um agente anti-CD20.

[076] Também é fornecida neste aspecto da divulgação uma composição compreendendo um ADC, um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20 para uso em um método de tratamento de um distúrbio em um indivíduo.

[077] Também é fornecido neste aspecto da divulgação o uso de uma composição compreendendo um ADC, um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20 na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio em um indivíduo.

[078] Também é fornecido neste aspecto da divulgação um kit que compreende uma composição compreendendo um ADC, um agente secundário, e, opcionalmente, um agente anti-CD20 e um conjunto de instruções para administração do medicamento a um indivíduo para o tratamento de um distúrbio.

[079] O distúrbio pode ser uma doença proliferativa, por exemplo, um câncer como Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular, (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph+ALL) ou ALL negativo para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL).

[080] O câncer alvo ou células de câncer podem ser todo ou parte de um tumor sólido.

[081] "Tumor sólido" neste documento será entendido como incluindo cânceres hematológicos sólidos, como linfomas (linfoma de Hodgkin ou linfoma não-Hodgkin), os quais são discutidos em mais detalhes aqui.

[082] Por exemplo, o tumor sólido pode ser um tumor com altos níveis de células T infiltrantes, como células T reguladoras infiltrantes (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 27 de Jan de 2017; 27(1):109-118). Portanto, o tumor sólido pode ser câncer pancreático, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça e pescoço.

[083] O ADC pode ser anti-CD19-ADC, como o ADCX19 aqui descrito.

[084] O ADC pode ser anti-CD22-ADC, como o ADCxCD22 aqui descrito

[085] O agente secundário pode ser um inibidor de tirosina cinase de Bruton (BTKi), um antagonista de PD1, um antagonista de PD-L1, um agonista de GITR, um agonista de OX40, um antagonista de CTLA-4, Fludarabina ou citarabina, um agente hipometilante, um agente que sobrerregula a expressão de HER2, um ou um agente anti-CD20.

[086] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD19+ve e CD19-ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD22+ve e C22-ve.

[087] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD19-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD19-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD19+ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD22-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD22-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD22 + ve.

[088] O indivíduo pode ser humano. O indivíduo pode ter câncer ou pode ter

sido determinado como tendo câncer. O indivíduo pode ter, ou foi determinado como tendo, um câncer CD19+ ou células não tumorais associadas ao tumor CD19+, tais como células B infiltrantes de CD19+. O indivíduo pode ter, ou foi determinado como tendo, um câncer CD22+ ou células não tumorais associadas ao tumor CD22+, tais como células B infiltrantes de CD22+.

[089] O ADC e o agente secundário podem ser administrados antes do agente anti-CD20, simultaneamente com o agente anti-CD20 ou após o agente anti-CD20. O tratamento pode compreender a administração de um agente quimioterapêutico adicional ao indivíduo.

-----

#### DESCRIÇÃO DETALHADA

##### Conjugados de Fármacos e Anticorpos (ADCs)

[090] A presente divulgação refere-se à eficácia melhorada de combinações de um ADC e um agente secundário.

[091] O ADC pode aplicar um fármaco em um local alvo. O local alvo é, de preferência, uma população de células proliferativas. O anticorpo é um anticorpo para um antígeno presente em uma população de células proliferativas. Em um aspecto, o antígeno está ausente ou presente em um nível reduzido em uma população de células não proliferativas em comparação com a quantidade de antígeno presente na população de células proliferativas, por exemplo, uma população de células tumorais.

[092] O ADC pode compreender um ligante que pode ser clivado de modo a liberar o fármaco no local alvo. O fármaco pode ser um composto selecionado entre ReIA, ReIB, ReIC, ReID ou ReIE. Assim, o conjugado pode ser usado para fornecer seletivamente um composto ReIA, ReIB, ReIC, ReID ou ReIE para o local alvo.

[093] O ligante pode ser clivado por uma enzima presente no local alvo.

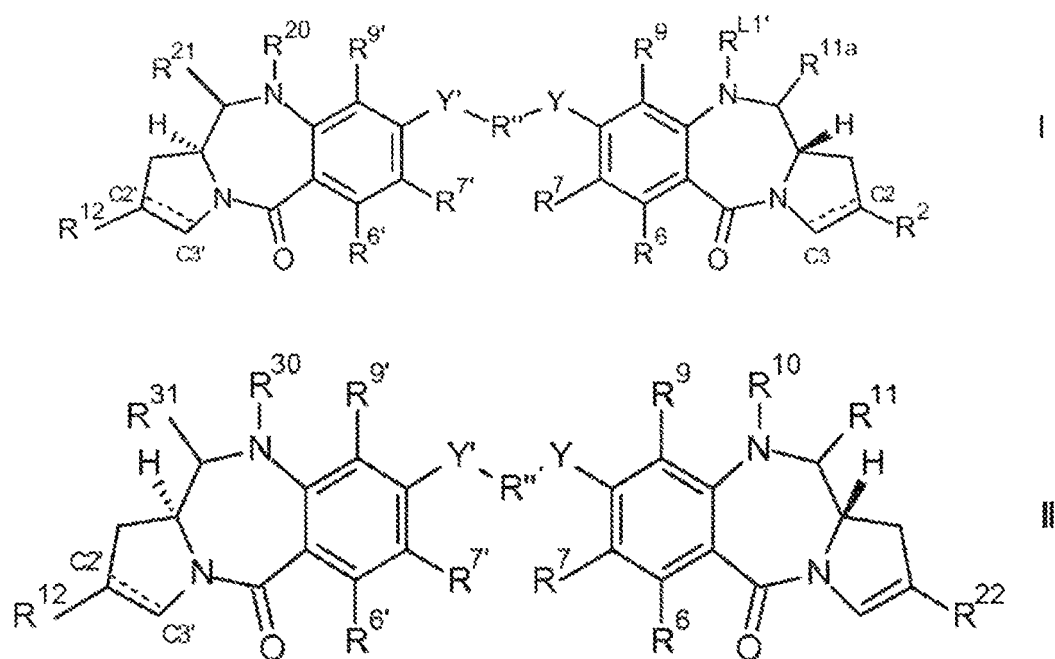
[094] A divulgação refere-se particularmente ao tratamento com um anti-CD19 ADC divulgado no documento WO2014/057117, e como aqui descrito.

[095] A divulgação também refere-se particularmente ao tratamento com um ADC anti-CD22 divulgado no documento WO2014/057122, e como aqui descrito.

#### ADCs anti-CD19

[096] Como usado aqui, o termo "CD19-ADC" refere-se a um ADC no qual o componente do anticorpo é um anticorpo anti-CD19. O termo "PBD-ADC" refere-se a um ADC no qual o componente do fármaco é uma ogiva de pirrolobenzodiazepina (PBD). O termo "anti-CD19-ADC" refere-se a um ADC no qual o componente de anticorpo é um anticorpo anti-CD19 e o componente do fármaco é uma ogiva de PBD.

[097] O ADC pode compreender um conjugado de fórmula L  $-(D^L)_p$ , onde  $D^L$  é de fórmula I ou II:



em que:

L é um anticorpo (Ab) que se liga ao CD19;

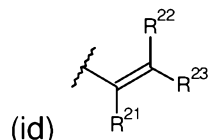
quando existe uma ligação dupla presente entre C2' e C3', R<sup>12</sup> é selecionado o grupo que consiste em:

(ia) grupo arila C<sub>5-10</sub>, opcionalmente substituído por um ou mais substituintes selecionados do grupo que compreende: halo, nitro, ciano, éter, carbóxi, éster, alquila

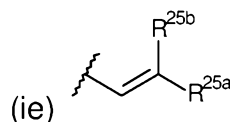
C<sub>1-7</sub>, heterociclila C<sub>3-7</sub> e bis-óxi-C<sub>1-3</sub> alquilenos;

(ib) alquila alifático saturado C<sub>1-5</sub>;

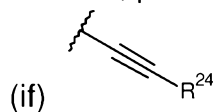
(ic) cicloalquila C<sub>3-6</sub> saturado;



, em que cada um de R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> e R<sup>23</sup> são independentemente selecionados de H, alquila C<sub>1-3</sub> saturado, alquenila C<sub>2-3</sub>, alquinila C<sub>2-3</sub> e ciclopropila, em que o número total de átomos de carbono no grupo R<sup>12</sup> não é mais de 5;

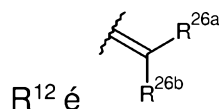


, em que um de R<sup>25a</sup> e R<sup>25b</sup> é H e o outro é selecionado de: fenila, cujo fenila é opcionalmente substituído por um grupo selecionado de halo, metila, metoxila; piridila; e tiofenila; e



, em que R<sup>24</sup> é selecionado de: H; alquila C<sub>1-3</sub> saturado; alquenila C<sub>2-3</sub>; alquinila C<sub>2-3</sub>; ciclopropila; fenila, cujo fenila é opcionalmente substituído por um grupo selecionado de halo, metila, metoxila; piridila; e tiofenila;

quando existe uma ligação simples presente entre C2' e C3',



, em que R<sup>26a</sup> e R<sup>26b</sup> são selecionados independentemente de H, F, alquila C<sub>1-4</sub> saturado, alquenila C<sub>2-3</sub>, cujos grupos alquila e alquenila são opcionalmente substituídos por um grupo selecionado de alquilamido C<sub>1-4</sub> e éster de alquila C<sub>1-4</sub>; ou quando um de R<sup>26a</sup> e R<sup>26b</sup> é H, o outro é selecionado de nitrila e um éster de alquila C<sub>1-4</sub>;

R<sup>6</sup> e R<sup>9</sup> são selecionados independentemente de H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NRR', nitro, Me<sub>3</sub>Sn e halo;

onde R e R' são independentemente selecionados de grupos alquila C<sub>1-12</sub> opcionalmente substituída, heterociclila C<sub>3-20</sub> e arila C<sub>5-20</sub>;

R<sup>7</sup> é selecionado de H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NHRR', nitro, Me<sub>3</sub>Sn

e halo;

R'' é um grupo alquilenos C<sub>3-12</sub>, cuja cadeia pode ser interrompida por um ou mais heteroátomos, por exemplo, O, S, NR<sup>N2</sup> (onde R<sup>N2</sup> é H ou alquila C<sub>1-4</sub>) e/ou anéis aromáticos, por exemplo, benzeno ou piridina;

Y e Y' são selecionados de O, S ou NH;

R<sup>6'</sup>, R<sup>7'</sup>, R<sup>9'</sup> são selecionados dos mesmos grupos que R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> e R<sup>9</sup> respectivamente;

[Fórmula I]

R<sup>L1'</sup> é um ligante para conexão ao anticorpo (Ab);

R<sup>11a</sup> é selecionado de OH, OR<sup>A</sup>, onde R<sup>A</sup> é alquila C<sub>1-4</sub> e SO<sub>z</sub>M, onde z é 2 ou 3 e M é um cátion monovalente farmacologicamente aceitável;

R<sup>20</sup> e R<sup>21</sup> juntos formam uma ligação dupla entre os átomos de nitrogênio e carbono aos quais estão ligados ou;

R<sup>20</sup> é selecionado entre H e R<sup>C</sup>, onde R<sup>C</sup> é um grupo de terminação;

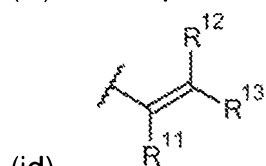
R<sup>21</sup> é selecionado de OH, OR<sup>A</sup> e SO<sub>z</sub>M;

quando existe uma ligação duplapresente entre C2 e C3, R<sup>2</sup> é selecionado o grupo que consiste em:

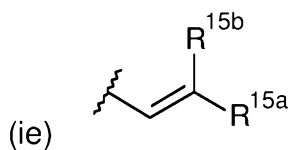
(ia) grupo arila C<sub>5-10</sub>, opcionalmente substituído por um ou mais substituintes selecionados do grupo que compreende: halo, nitro, ciano, éter, carbóxi, éster, alquila C<sub>1-7</sub>, heterociclila C<sub>3-7</sub> e bis-óxi-C<sub>1-3</sub> alquilenos;

(ib) alquila alifático saturado C<sub>1-5</sub>;

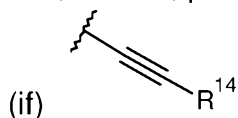
(ic) cicloalquila C<sub>3-6</sub> saturado;



, em que cada um de R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> e R<sup>13</sup> são independentemente selecionados de H, alquila C<sub>1-3</sub> saturado, alquenila C<sub>2-3</sub>, alquinila C<sub>2-3</sub> e ciclopropila, em que o número total de átomos de carbono no grupo R<sup>2</sup> não é mais de 5;

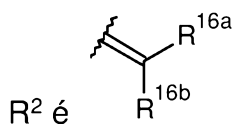


, em que um de  $R^{15a}$  e  $R^{15b}$  é H e o outro é selecionado dentre: fenila, cuja fenila é opcionalmente substituída por um grupo selecionado dentre halo, metila, metóxi; piridila; e tiofenila; e



, onde  $R^{14}$  é selecionado dentre: H;  $C_{1-3}$  alquila saturada;  $C_{2-3}$  alquenila;  $C_{2-3}$  alquinila; ciclopropila; fenila, cuja fenila é opcionalmente substituída por um grupo selecionado dentre halo, metila, metóxi; piridila; e tiofenila;

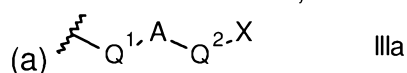
quando há uma ligação única presente entre C2 e C3,



, onde  $R^{16a}$  e  $R^{16b}$  são selecionados independentemente de H, F,  $C_{1-4}$  alquila saturada,  $C_{2-3}$  alquenila, cujos grupos alquila e alquenila são opcionalmente substituídos por um grupo selecionado dentre  $C_{1-4}$  alquilamido e  $C_{1-4}$  éster alquílico; ou, quando um dentre  $R^{16a}$  e  $R^{16b}$  é H, o outro é selecionado dentre nitrila e um  $C_{1-4}$  éster alquílico;

### [Fórmula II]

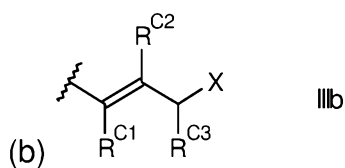
$R^{22}$  é de fórmula IIIa, fórmula IIIb ou fórmula IIIc:



onde A é um grupo arila  $C_{5-7}$ , e quer

(i)  $Q^1$  é uma ligação simples, e  $Q^2$  é selecionado de uma ligação simples e -  $Z-(CH_2)_n-$ , onde Z selecionado de uma ligação simples, O, S e NH e n é de 1 a 3; ou

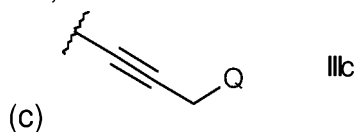
(ii)  $Q^1$  é  $-CH=CH-$ , e  $Q^2$  é uma ligação simples;



onde;

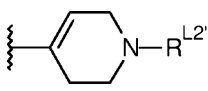
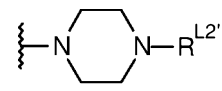
$R^{C1}$ ,  $R^{C2}$  e  $R^{C3}$  são selecionados independentemente de H e alquila  $C_{1-2}$  não

substituída;



onde Q é selecionado de  $OR^{L2'}$ ,  $SR^{L2'}$  e  $NR^N-R^{L2'}$  e  $R^N$  é selecionado de H, metila e etila

X é selecionado do grupo que compreende:  $O-R^{L2'}$ ,  $S-R^{L2'}$ ,  $CO_2-R^{L2'}$ ,  $CO-R^{L2'}$ ,

$NH-C(=O)-R^{L2'}$ ,  $NHNH-R^{L2'}$ ,  $CONHNH-R^{L2'}$ , , ,  $NR^N R^{L2'}$ , em que  $R^N$  é selecionado do grupo que compreende H e  $C_{1-4}$  alquila;

$R^{L2'}$  é um ligante para conexão ao anticorpo (Ab);

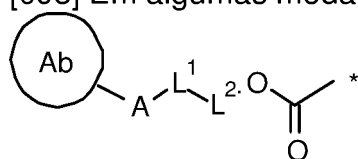
$R^{10}$  e  $R^{11}$  juntos formam uma ligação dupla entre os átomos de nitrogênio e carbono aos quais estão ligados ou;

$R^{10}$  é H e  $R^{11}$  é selecionado de OH,  $OR^A$  e  $SO_2M$ ;

$R^{30}$  e  $R^{31}$  juntos formam uma ligação dupla entre os átomos de nitrogênio e carbono aos quais estão ligados ou;

$R^{30}$  é H e  $R^{31}$  é selecionado de OH,  $OR^A$  e  $SO_2M$ .

[098] Em algumas modalidades  $L-R^{L1'}$  ou  $L-R^{L2'}$  é um grupo:



onde o asterisco indica o ponto de ligação ao PBD, Ab é o anticorpo,  $L^1$  é um ligador clivável, A é um grupo de conexão que conecta  $L^1$  ao anticorpo,  $L^2$  é uma ligação covalente ou juntamente com  $-OC(=O)-$  forma um ligador autoimolativo.

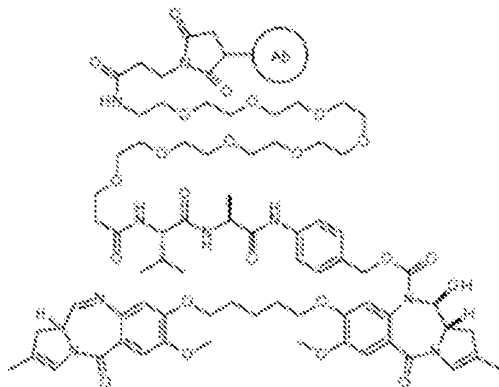
[099] Em algumas dessas modalidades,  $L^1$  é clivável por enzimas.

[0100] Foi demonstrado anteriormente que tais ADCs são úteis no tratamento de cânceres que expressam CD19 (ver, por exemplo, WO2014/057117, que é incorporado por referência aqui na sua totalidade).

[0101] O termo anti-CD19-ADC pode incluir qualquer modalidade descrita no



documento WO 2014/057117. Em particular, em modalidades preferidas, o ADC pode ter a estrutura química:



, em que o Ab é um anticorpo CD19 e o DAR está entre 1 e 8.

[0102] O anticorpo pode compreender um domínio VH com a sequência de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs. 1, 2, 3, 4, 5 ou 6, opcionalmente compreendendo ainda um domínio VL tendo a sequência de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs. 7, 8, 9, 10, 11 ou 12.

[0103] Em alguns aspectos, o componente de anticorpo do anti-CD19-ADC é um anticorpo que compreende: domínios VH e VL, respectivamente, com as sequências de: SEQ ID NO. 1 e SEQ ID NO. 7, SEQ ID NO. 2 e SEQ ID NO. 8, SEQ ID NO. 3 e SEQ ID NO. 9, SEQ ID NO. 4 e SEQ ID NO. 10, SEQ ID NO. 5 e SEQ ID NO. 11, ou SEQ ID NO. 6 e SEQ ID NO. 12.

[0104] Em modalidades preferidas, o anticorpo compreende um domínio VH com a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 2. Em modalidades preferidas, o anticorpo compreende um domínio VL com a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 8.

[0105] Em modalidades preferidas o anticorpo compreende um domínio VH e um domínio VL, os domínios VH tendo a sequência de SEQ ID NO. 2 e o domínio VL tendo a sequência de SEQ ID NO. 8.

[0106] O(s) domínio(s) VH e VL podem se emparelhar de modo a formar um sítio de ligação ao antígeno de anticorpo que se liga a CD19.

[0107] Em algumas modalidades, o anticorpo é um anticorpo intacto compreendendo um domínio VH e um domínio VL, os domínios VH e VL tendo sequências de SEQ ID NO. 2 e SEQ ID NO. 8.

[0108] Em algumas modalidades, o anticorpo é um anticorpo compreendendo uma cadeia pesada com sequências da SEQ ID NO. 17 e uma cadeia leve com as sequências da SEQ ID NO. 18.

[0109] Em algumas modalidades, o anticorpo é um anticorpo monoclonal de IgG1 completamente humano, de preferência, IgG1, $\kappa$ .

[0110] Em algumas modalidades, o anticorpo é o anticorpo RB4v1.2 descrito no documento WO 2014/057117.

[0111] Em um aspecto, o anticorpo é um anticorpo como aqui descrito que foi modificado (ou posteriormente modificado) como descrito abaixo. Em algumas modalidades, o anticorpo é uma versão humanizada, desimunizada ou ressurgida de um anticorpo aqui divulgado.

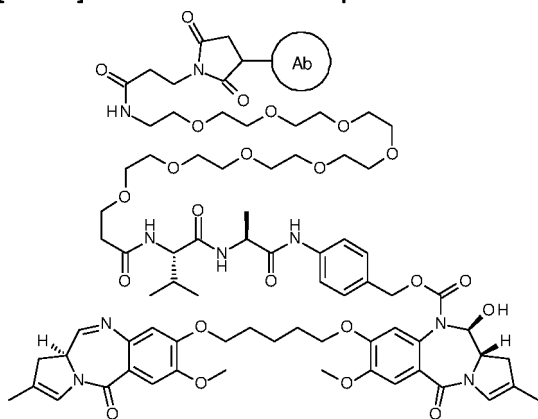
[0112] O anti-CD19-ADC mais preferido para uso com os aspectos da presente divulgação é o ADCX19, conforme descrito abaixo.

#### ADCX19

[0113] ADCX19 é um conjugado de anticorpo e fármaco composto por um anticorpo humanizado contra CD19 humana ligado a uma ogiva de pirrolobenzodiazepina (PBD) por meio de um ligante clivável. O mecanismo de ação de ADCX19 depende da ligação de CD19. O anticorpo específico para CD19 tem como alvo o conjugado de anticorpo e fármaco (ADC) para células que expressam CD19. Após a ligação, o ADC internaliza e é transportado para o lisossomo, onde o ligante sensível à protease é clivado e o dímero de PBD livre é liberado dentro da célula alvo. O dímero de PBD liberado inibe a transcrição de maneira seletiva por sequência, devido à inibição direta da RNA polimerase ou à inibição da interação dos fatores de transcrição associados. O dímero de PBD produz reticulações covalentes

que não distorcem a dupla hélice do DNA e que não são reconhecidas pelos fatores de reparo por excisão de nucleotídeos, permitindo um período efetivo mais longo (Hartley 2011).

[0114] Tem a estrutura química:



Ab representa o anticorpo RB4v1.2 (anticorpo com as sequências de VH e VL de SEQ ID NO. 2 e SEQ ID NO. 8, respectivamente). O mesmo é sintetizado como descrito no documento WO2014/057117 (RB4v1.2-E) e normalmente tem um DAR (Razão de Fármaco para Anticorpo) de 2 +/- 0,3. .

#### Ligação de CD19

[0115] A "primeira proteína alvo" (FTP) como usado aqui pode ser CD19.

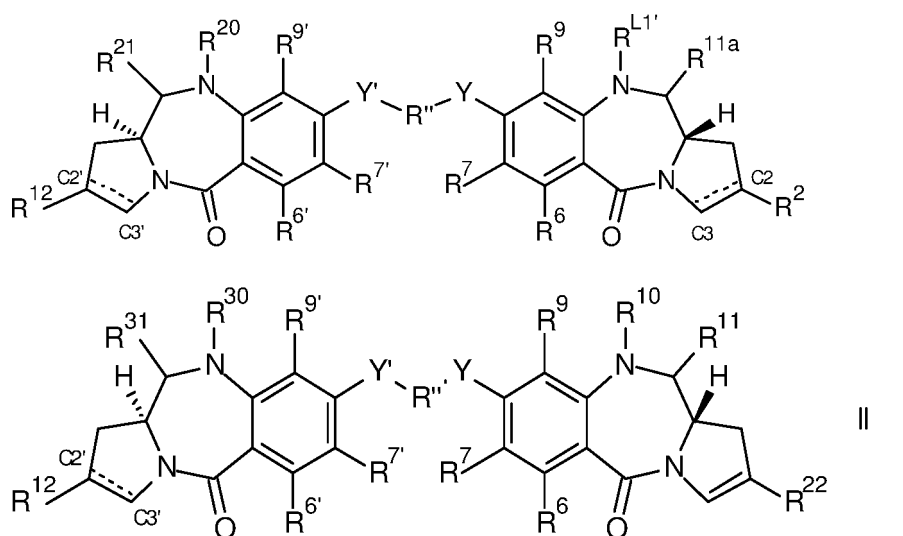
[0116] Como usado aqui, "liga-se a CD19" é usado para significar que o anticorpo liga-se a CD19 com uma afinidade mais alta do que um parceiro não específico, como albumina de soro bovino (BSA, nº de acesso Genbank CAA76847, versão nº CAA76847.1 GI: 3336842, data de atualização do registro: 7 de Janeiro de 2011 14:30 h). Em algumas modalidades, o anticorpo liga-se a CD19 com uma constante de associação ( $K_a$ ) pelo menos 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000,  $10^4$ ,  $10^5$  ou  $10^6$ - vezes superior à constante de associação do anticorpo para BSA, quando medida em condições fisiológicas. Os anticorpos da invenção podem se ligar a CD19 com uma alta afinidade. Por exemplo, em algumas modalidades, o anticorpo pode se ligar a CD19 com um  $K_D$  igual ou inferior a cerca de  $10^{-6}$  M, como  $1 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-13}$  ou  $10^{-14}$ .

[0117] Em algumas modalidades, o polipeptídeo CD19 corresponde ao nº de acesso Genbank NP\_001171569, versão nº. NP\_001171569.1 GI:296010921, data da atualização do registro: 10 de setembro de 2012, 00:43 h. Em uma modalidade, o ácido nucleico que codifica o polipeptídeo CD19 corresponde ao nº. de acesso ao Genbank NM\_001178098, versão nº. NM\_001178098.1 GI: 296010920, data da atualização do registro: 10 de setembro de 2012, 00:43 h. Em algumas modalidades, o polipeptídeo CD19 corresponde ao número de acesso Uniprot/Swiss-Prot Nº P15391.

#### ADCs anti-CD22

[0118] Como usado aqui, o termo "CD22-ADC" refere-se a um ADC no qual o componente do anticorpo é um anticorpo anti-CD22. O termo "PBD-ADC" refere-se a um ADC no qual o componente do medicamento é uma ogiva de pirrolobenzodiazepina (PBD). O termo "anti-CD22-ADC" refere-se a um ADC no qual o componente do anticorpo é um anticorpo anti-CD22 e o componente do fármaco é uma ogiva de PBD.

[0119] O ADC pode compreender um conjugado de fórmula L  $-(D^L)_p$ , onde  $D^L$  é de fórmula I ou II:



em que:

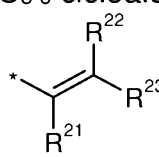
L é um anticorpo (Ab) que é um anticorpo que se liga a CD22;

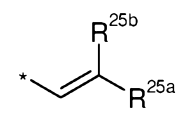
quando existe uma ligação dupla presente entre C2' e C3', R<sup>12</sup> é selecionado do grupo que consiste em:


(ia) grupo C<sub>5-10</sub> arila, opcionalmente substituído por um ou mais substituintes selecionados do grupo que compreende: halo, nitro, ciano, éter, carboxi, éster, C<sub>1-7</sub> alquila, C<sub>3-7</sub> heterociclila e bis-oxi-C<sub>1-3</sub> alquilenos;

(ib) C<sub>1-5</sub> alquila alifática saturada;

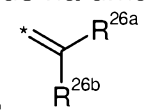
(ic) C<sub>3-6</sub> cicloalquila saturada;

(id) , em que cada um dentre R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> e R<sup>23</sup> são selecionados independentemente de H, C<sub>1-3</sub> alquila saturado, C<sub>2-3</sub> alquenila, C<sub>2-3</sub> alquinila e ciclopropila, em que o número total de átomos de carbono no grupo R<sup>12</sup> não é superior a 5;

(ie) , em que um de R<sup>25a</sup> e R<sup>25b</sup> é H e o outro é selecionado dentre: fenila, cuja fenila é opcionalmente substituída por um grupo selecionado dentre halo, metila, metóxi; piridila; e tiofenila; e

(if) , onde R<sup>24</sup> é selecionado dentre: H; C<sub>1-3</sub> alquila saturada; C<sub>2-3</sub> alquenila; C<sub>2-3</sub> alquinila; ciclopropila; fenila, cuja fenila é opcionalmente substituída por um grupo selecionado dentre halo, metila, metóxi; piridila; e tiofenila;

quando há uma ligação única presente entre C2' e C3',

R<sup>12</sup> é , onde R<sup>26a</sup> e R<sup>26b</sup> são selecionados independentemente de H, F, C<sub>1-4</sub> alquila saturada, C<sub>2-3</sub> alquenila, cujos grupos alquila e alquenila são opcionalmente substituídos por um grupo selecionado dentre C<sub>1-4</sub> alquilamido e C<sub>1-4</sub> éster alquílico; ou, quando um dentre R<sup>26a</sup> e R<sup>26b</sup> é H, o outro é selecionado dentre nitrila e um C<sub>1-4</sub> éster alquílico;

R<sup>6</sup> e R<sup>9</sup> são selecionados independentemente de H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>,

NHR, NRR', nitro, Me<sub>3</sub>Sn e halo;

onde R e R' são independentemente selecionados de grupos alquila C<sub>1-12</sub> opcionalmente substituída, heterociclila C<sub>3-20</sub> e arila C<sub>5-20</sub>;

R<sup>7</sup> é selecionado de H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NHRR', nitro, Me<sub>3</sub>Sn e halo;

R'' é um grupo alquilenos C<sub>3-12</sub>, cuja cadeia pode ser interrompida por um ou mais heteroátomos, por exemplo, O, S, NR<sup>N2</sup> (onde R<sup>N2</sup> é H ou alquila C<sub>1-4</sub>) e/ou anéis aromáticos, por exemplo, benzeno ou piridina;

Y e Y' são selecionados de O, S ou NH;

R<sup>6'</sup>, R<sup>7'</sup>, R<sup>9'</sup> são selecionados dos mesmos grupos que R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> e R<sup>9</sup> respectivamente;

*[Fórmula I]*

R<sup>L1'</sup> é um ligante para conexão ao anticorpo (Ab);

R<sup>11a</sup> é selecionado de OH, OR<sup>A</sup>, onde R<sup>A</sup> é alquila C<sub>1-4</sub> e SO<sub>z</sub>M, onde z é 2 ou 3 e M é um cátion monovalente farmacologicamente aceitável;

R<sup>20</sup> e R<sup>21</sup> juntos formam uma ligação dupla entre os átomos de nitrogênio e carbono aos quais estão ligados ou;

R<sup>20</sup> é selecionado entre H e R<sup>C</sup>, onde R<sup>C</sup> é um grupo de terminação;

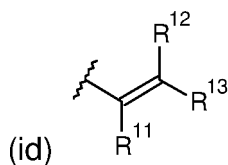
R<sup>21</sup> é selecionado de OH, OR<sup>A</sup> e SO<sub>z</sub>M;

quando existe uma ligação dupla presente entre C2 e C3, R<sup>2</sup> é selecionado do grupo que consiste em:

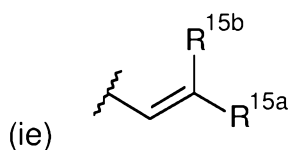
(ia) grupo C<sub>5-10</sub> arila, opcionalmente substituído por um ou mais substituintes selecionados do grupo que compreende: halo, nitro, ciano, éter, carboxi, éster, C<sub>1-7</sub> alquila, C<sub>3-7</sub> heterociclila e bis-oxi-C<sub>1-3</sub> alquilenos;

(ib) C<sub>1-5</sub> alquila alifática saturada;

(ic) C<sub>3-6</sub> cicloalquila saturada;



(id) , em que cada um dentre  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  e  $R^{13}$  são selecionados independentemente de H,  $C_{1-3}$  alquila saturado,  $C_{2-3}$  alquenila,  $C_{2-3}$  alquinila e ciclopropila, em que o número total de átomos de carbono no grupo  $R^2$  não é superior a 5;

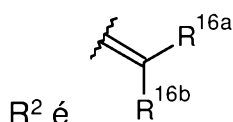


(ie) , em que um de  $R^{15a}$  e  $R^{15b}$  é H e o outro é selecionado dentre: fenila, cuja fenila é opcionalmente substituída por um grupo selecionado dentre halo, metila, metóxi; piridila; e tiofenila; e



(if) , onde  $R^{14}$  é selecionado dentre: H;  $C_{1-3}$  alquila saturada;  $C_{2-3}$  alquenila;  $C_{2-3}$  alquinila; ciclopropila; fenila, cuja fenila é opcionalmente substituída por um grupo selecionado dentre halo, metila, metóxi; piridila; e tiofenila;

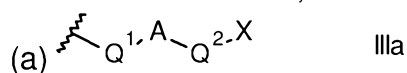
quando há uma ligação única presente entre C2 e C3,



$R^2$  é , onde  $R^{16a}$  e  $R^{16b}$  são selecionados independentemente de H, F,  $C_{1-4}$  alquila saturada,  $C_{2-3}$  alquenila, cujos grupos alquila e alquenila são opcionalmente substituídos por um grupo selecionado dentre  $C_{1-4}$  alquilamido e  $C_{1-4}$  éster alquílico; ou, quando um dentre  $R^{16a}$  e  $R^{16b}$  é H, o outro é selecionado dentre nitrila e um  $C_{1-4}$  éster alquílico;

[Fórmula II]

$R^{22}$  é de fórmula IIIa, fórmula IIIb ou fórmula IIIc:

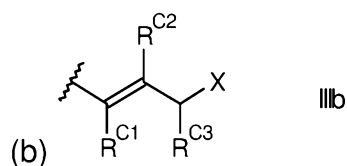


IIIa

onde A é um grupo arila  $C_{5-7}$ , e quer

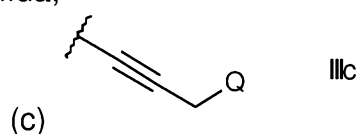
(i)  $Q^1$  é uma ligação simples, e  $Q^2$  é selecionado de uma ligação simples e -  $Z-(CH_2)_n-$ , onde Z selecionado de uma ligação simples, O, S e NH e n é de 1 a 3; ou

(ii)  $Q^1$  é  $-\text{CH}=\text{CH}-$ , é  $Q^2$  é uma ligação simples;



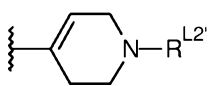
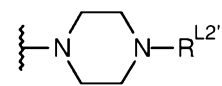
onde;

$R^{C1}$ ,  $R^{C2}$  e  $R^{C3}$  são selecionados independentemente de H e alquila  $C_{1-2}$  não substituída;



onde Q é selecionado de  $\text{OR}^{L2'}$ ,  $\text{SR}^{L2'}$  e  $\text{NR}^N\text{-R}^{L2'}$  e  $R^N$  é selecionado de H, metila e etila

X é selecionado do grupo que compreende:  $\text{O-R}^{L2'}$ ,  $\text{S-R}^{L2'}$ ,  $\text{CO}_2\text{-R}^{L2'}$ ,  $\text{CO-R}^{L2'}$ ,

$\text{NH-C(=O)-R}^{L2'}$ ,  $\text{NHNH-R}^{L2'}$ ,  $\text{CONHNH-R}^{L2'}$ , , ,  $\text{NR}^N\text{R}^{L2'}$ , em que  $R^N$  é selecionado do grupo que compreende H e  $C_{1-4}$  alquila;

$R^{L2'}$  é um ligante para conexão ao anticorpo (Ab);

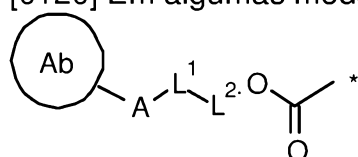
$R^{10}$  e  $R^{11}$  juntos formam uma ligação dupla entre os átomos de nitrogênio e carbono aos quais estão ligados ou;

$R^{10}$  é H e  $R^{11}$  é selecionado de OH,  $\text{OR}^A$  e  $\text{SO}_2\text{M}$ ;

$R^{30}$  e  $R^{31}$  juntos formam uma ligação dupla entre os átomos de nitrogênio e carbono aos quais estão ligados ou;

$R^{30}$  é H e  $R^{31}$  é selecionado de OH,  $\text{OR}^A$  e  $\text{SO}_2\text{M}$ .

[0120] Em algumas modalidades  $\text{L-R}^{L1'}$  ou  $\text{L-R}^{L2'}$  é um grupo:



onde o asterisco indica o ponto de ligação ao PBD, Ab é o anticorpo,  $L^1$  é um

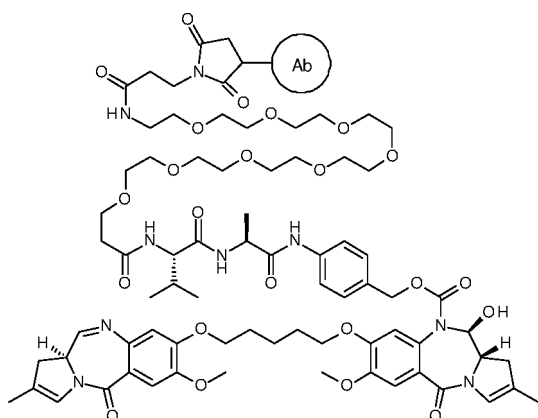


ligador clivável, A é um grupo de conexão que conecta L<sup>1</sup> ao anticorpo, L<sup>2</sup> é uma ligação covalente ou juntamente com -OC (=O)- forma um ligador autoimolativo.

[0121] Em algumas dessas modalidades, L<sup>1</sup> é clivável por enzima.

[0122] Foi demonstrado anteriormente que tais ADCs são úteis no tratamento de cânceres que expressam CD22 (ver, por exemplo, WO2014/057122, que é incorporado por referência aqui na sua totalidade).

[0123] O termo anti-CD22-ADC pode incluir qualquer modalidade descrita no documento WO 2014/057122. Em particular, em modalidades preferidas, o ADC pode ter a estrutura química:



, onde o Ab é um anticorpo CD22.

#### O componente anticorpo do ADC anti-CD22

[0124] O anticorpo pode compreender uma substituição de aminoácidos de um resíduo de cisteína entre cadeias por um aminoácido que não é cisteína, em que a conjugação da fração de fármaco ao anticorpo está em um resíduo de cisteína entre cadeias.

[0125] O anticorpo compreende, de preferência: (i) uma cadeia pesada com uma substituição de aminoácidos de cada um dos resíduos de cisteína intercadeia HC226 e HC229 de acordo com o índice EU, conforme estabelecido em Kabat; (ii) uma cadeia leve tendo uma substituição de aminoácidos do resíduo de cisteína intercadeia κLC214 ou λLC213 de acordo com o índice EU como estabelecido em Kabat; e (iii) uma cadeia pesada retendo a cisteína intercadeia não substituída HC220

de acordo com o índice EU, conforme estabelecido em Kabat.

[0126] De preferência, a porção do fármaco é conjugada com a cisteína intercadeia não substituída HC220. Os resíduos de cisteína intercadeia HC226 e HC229 podem, cada um, ser substituídos por valina. Os resíduos de cisteína intercadeia  $\kappa$ LC214 ou  $\lambda$ LC213 podem ser substituídos por serina.

[0127] Em algumas modalidades, o anticorpo dos conjugados aqui descritos compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO. 150, ou fragmento da mesma, em que a cisteína na posição 105, se presente, é substituída por um aminoácido que não é cisteína. Por exemplo, SEQ ID NO. 151 divulga uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO. 150, em que a cisteína na posição 105 é substituída por um resíduo de serina.

[0128] Em algumas modalidades, o anticorpo dos conjugados aqui descritos compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO. 160, ou fragmento da mesma, em que a cisteína na posição 102, se presente, é substituída por um aminoácido que não é cisteína. For example, SEQ ID NO. 161 divulga uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO. 160, em que a cisteína na posição 102 é substituída por um resíduo de serina.

[0129] Em algumas modalidades, o anticorpo compreende:

(i) uma cadeia pesada com uma substituição de aminoácidos de cada um dos resíduos de cisteína intercadeia HC226 e HC229 de acordo com o índice EU como estabelecido em Kabat, opcionalmente em que HC226 e HC229 são cada um substituídos por valina;

(ii) uma cadeia leve com uma substituição de aminoácidos do resíduo de cisteína intercadeias  $\kappa$ LC214 ou  $\lambda$ LC213 de acordo com o índice EU estabelecido em Kabat, opcionalmente em que  $\kappa$ LC214 ou  $\lambda$ LC213 é substituído por serina;

(iii) uma cadeia pesada que retém a cisteína intercadeia não substituída HC220 de acordo com o índice EU estabelecido em Kabat, opcionalmente em que a

fração do fármaco é conjugada à cisteína em HC220. Nestas modalidades, o anticorpo ainda compreende, de preferência, um domínio VH com a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 13 e um domínio VL tendo a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 14. A cadeia leve pode compreender a sequência de aminoácidos de: (i) SEQ ID NO. 150, ou fragmento da mesma, em que a cisteína na posição 105, se presente, é substituída por um aminoácido que não é cisteína (como na SEQ ID NO. 151); ou SEQ ID NO. 160, ou fragmento da mesma, em que a cisteína na posição 102, se presente, é substituída por um aminoácido que não é cisteína (como na SEQ ID NO. 161).

[0130] O anticorpo pode compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO. 110, e uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO. 150 ou SEQ ID NO. 160;

em que cada uma das cisteínas nas posições 109 e 112 na SEQ ID NO: 110 é substituída por um aminoácido que não é cisteína;

e em que a cisteína na posição 105 na SEQ ID NO: 150 ou a cisteína na posição 102 na SEQ ID NO: 160, é substituído por um aminoácido que não é cisteína. De preferência, a porção do fármaco é conjugada com a cisteína na posição 103 da SEQ ID NO. 110. Em algumas modalidades, as cisteínas nas posições 109 e 112 na SEQ ID NO: 110 são substituídas por valina, como na SEQ ID NO: 114. Em algumas modalidades, a cisteína na posição 105 na SEQ ID NO: 150 ou a cisteína na posição 102 na SEQ ID NO: 160 é substituída por serina, como nas SEQ ID NOs: 151 e 161.

[0131] Em alguns aspectos, o componente de anticorpo do anti-CD22-ADC é um anticorpo compreendendo: um domínio VH com a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 13.

[0132] O anticorpo pode ainda compreender um domínio VL com a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 14.

[0133] Em modalidades preferidas, o anticorpo compreende um domínio VH com a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 13 e um domínio VL tendo a sequência

de acordo com a SEQ ID NO. 14. Por exemplo, em algumas modalidades preferidas, o anticorpo compreende:

uma cadeia pesada com a sequência de acordo com a SEQ ID NO: 114;

uma cadeia leve com a sequência de acordo com a SEQ ID NO: 151;

um domínio VH tendo a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 13; e

um domínio VL tendo a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 14.

[0134] De preferência, a porção do fármaco é conjugada com a cisteína na posição 103 da SEQ ID NO.114.

[0135] Em algumas modalidades, o anticorpo é um anticorpo monoclonal de IgG1 completamente humano, de preferência, IgG1,k.

[0136] Em algumas modalidades, o anticorpo é o anticorpo epratuzumabe descrito no documento WO 2014/057122.

[0137] Em algumas modalidades, o anticorpo compreende uma cadeia pesada com a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 15 e uma cadeia leve com a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 16. De preferência, a porção do fármaco é conjugada com a cisteína na posição 219 da SEQ ID NO.15.

[0138] Em um aspecto, o anticorpo é um anticorpo como aqui descrito que foi modificado (ou posteriormente modificado) como descrito abaixo. Em algumas modalidades, o anticorpo é uma versão humanizada, desimunizada ou ressurgida de um anticorpo aqui divulgado.

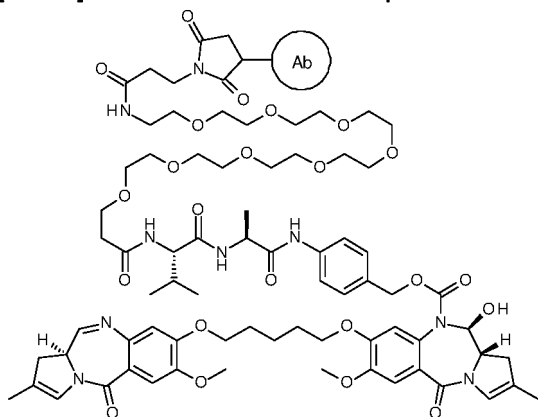
[0139] O anti-CD22-ADC mais preferido para uso com os aspectos da presente divulgação é o ADCX22, conforme descrito abaixo.

#### ADCX22

[0140] ADCX22 é um conjugado de anticorpo e fármaco composto de um anticorpo humano contra CD22 humano ligado a uma ogiva de pirrolobenzodiazepina (PBD) por meio de um ligante clivável. O mecanismo de ação de ADCX22 depende da ligação de CD22. O anticorpo específico para CD22 tem como alvo o conjugado

anticorpo e fármaco (ADC) para as células que expressam CD22. Após a ligação, o ADC internaliza e é transportado para o lisossomo, onde o ligante sensível à protease é clivado e o dímero de PBD livre é liberado dentro da célula alvo. O dímero de PBD liberado inibe a transcrição de maneira seletiva por sequência, devido à inibição direta da RNA polimerase ou à inibição da interação dos fatores de transcrição associados. O dímero de PBD produz reticulações covalentes que não distorcem a dupla hélice do DNA e que não são reconhecidas pelos fatores de reparo por excisão de nucleotídeos, permitindo um período efetivo mais longo (Hartley 2011).

[0141] Ele tem a estrutura química:



Ab representa o anticorpo EMabC220. Este anticorpo compreende uma cadeia pesada com a sequência de acordo com a SEQ ID NO 15 e uma cadeia leve com a sequência de acordo com a SEQ ID NO. 16. A ligação ao fármaco ocorre na cisteína intercadeia de cadeia pesada Cys220 (numeração EU). HC220 corresponde à posição 219 da SEQ ID NO.15.

[0142] Nota-se que “tendo a sequência” tem o mesmo significado que “compreendendo a sequência”; em particular, em algumas modalidades, a cadeia pesada de ADCx22 é expressa com um resíduo terminal 'K' adicional (então, terminando ... SPGK), com o terminal K sendo opcionalmente removido pós-tradução para melhorar a homogeneidade do produto terapêutico final de ADC.

#### Ligação de CD22

[0143] A "primeira proteína alvo" (FTP), como usado aqui, pode ser CD22.

[0144] Como usado aqui, "liga-se a CD22" é usado para significar que o anticorpo liga-se a CD22 com uma afinidade mais alta do que um parceiro não específico, como albumina de soro bovino (BSA, n°. de acesso ao Genbank CAA76847, versão CAA76847.1 GI: 3336842, data de atualização do registro: 7 de janeiro de 2011 14:30 h). Em algumas modalidades, o anticorpo se liga a CD22 com uma constante de associação ( $K_a$ ) pelo menos 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000,  $10^4$ ,  $10^5$  ou  $10^6$  vezes maior que a constante de associação do anticorpo para a BSA, quando medida em condições fisiológicas. Os anticorpos da invenção podem se ligar a CD22 com uma alta afinidade. Por exemplo, em algumas modalidades, o anticorpo pode se ligar a CD22 com um  $K_D$  igual ou menor que cerca de  $10^{-6}$  M, como  $1 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-13}$  ou  $10^{-14}$ .

[0145] Em algumas modalidades, o polipeptídeo CD22 corresponde ao n° de acesso Genbank BAB15489, versão n°. BAB15489.1 GI:10439338, data da atualização do registro: 11 de setembro de 2006, 23:24 h. Em uma modalidade, o ácido nucleico que codifica o polipeptídeo CD22 corresponde ao n°. de acesso ao Genbank NM\_AK026467, versão n°. AK026467.1 GI:10439337, data da atualização do registro: 11 de setembro de 2006, 23:24 h.

#### Agentes secundários

[0146] O recente desenvolvimento de agentes que potencializam a imunidade antitumoral está mudando rapidamente o tratamento de uma ampla gama de cânceres. No entanto, estes tratamentos não são eficazes em todos os tipos de câncer, as respostas muitas vezes não são duráveis e muitos pacientes recebem pouco ou nenhum benefício do tratamento. O pressuposto predominante no campo da oncologia é que apenas combinações de imunoterapias com outras opções de tratamento serão capazes de curar pacientes com câncer.

[0147] O ADC está bem tolerado e ativo em uma faixa de tipos de cânceres, e provavelmente será um componente das terapias de combinação que aumentam a

taxa de resposta e a durabilidade de tratamento. O objetivo desta divulgação é combinar o ADC com o agente secundário.

[0148] Um agente secundário, como descrito aqui, pode ser um fármaco imuno-oncológico (IO).

[0149] Os fármacos imuno-oncológicos (IO), um tipo de terapia contra o câncer que depende do sistema imunológico do corpo para ajudar a combater o câncer, demonstraram maior durabilidade da resposta antitumoral. Existem diferentes tipos de IO, incluindo, entre outros, inibidores de PD1, inibidores de PD-L1, inibidores de CTLA4, agonistas de GITR e agonistas de OX40. Devido à considerável fração de pacientes que não são curados por imunoterapias de agente único e, por fim, recaem, são necessários tratamentos combinados com medicamentos alternativos para IO ou diferentes modalidades terapêuticas (ver KS Peggs et al.2009, *Clinical and Experimental Immunology*, 157: 9–19 [doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03912.x]; DM Pardoll 2012 [doi:10.1038/nrc3239]).

[0150] A morte celular imunogênica (ICD) é uma forma particular de morte celular que estimula uma resposta imune contra antígenos de células mortas (liberados por células que estão morrendo) e é considerada uma das melhores maneiras de induzir uma resposta imune adaptativa e melhorar a eficácia de tratamento anticâncer. Esse processo é frequentemente subótimo, exigindo estratégias combinatórias que tentam restaurar a imunogenicidade total da morte celular para fins terapêuticos. Existem vários agentes antineoplásicos que podem induzir a ICD, como várias antraciclinas (incluindo doxorrubicina, epirubicina e idarubicina), agentes alquilantes (incluindo oxaliplatina e ciclofosfamida), inibidor da topoisomerase II mitoxantrona e inibidor proteasomal Bortezomib.

[0151] Os conjugados de anticorpo-fármaco, incluindo aqueles com uma ogiva de PBD, podem ser particularmente adequados como parceiros de combinação porque são mais direcionados em comparação à quimioterapia convencional e

espera-se que ofereçam uma apresentação de antígeno aumentada às células infiltrantes, como foi mostrado para os ADCs baseados em auristatina.

[0152] Portanto, a combinação de ADCs com IO permite benefícios duplos: por um lado, o ADC mata diretamente o tumor que expressa o alvo, fornecendo atividade antitumoral imediata e, por outro, a morte celular imunogênica induzida pela morte celular mediada pelo ADC pode aumentar a resposta imune adaptativa mais forte e mais durável, em comparação com quando o IO é administrado como um único agente.

[0153] O agente secundário pode ser:

(a)um Inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi), como Ibrutinib (Imbruvica), Acalabrutinib/ACP-196, ONO/GS-4059, Spebrutinib/AVL-292/CC-292, HM71224 (Poseltinib) ou BGB-3111 (Zanubrutinib);

(b)um antagonista de PD1, como pembrolizumab, nivolumab, MEDI0680, PDR001 (spartalizumab), Camrelizumab, AUNP12, Pidilizumab, Cemiplimab (REGN-2810), AMP-224, BGB-A317 (Tisleizumab), ou BGB-108;

(c)um antagonista de PD-L1, como atezolizumab (Tecentriq), BMS-936559/MDX-1105, durvalumab/MEDI4736, ou MSB0010718C (Avelumab);

(d)um agonista de G<sub>ITR</sub> (Glucocorticoid-Induced INFR-Related protein-Proteína Relacionada a TNFR Induzida por Glucocorticoide), como MEDI1873, TRX518, GWN323, MK-1248, MK-4166, BMS-986156 ou INCAGN1876;

(e)um agonista de OX40, como MEDI0562, MEDI6383, MOXR0916, RG7888, OX40mAb24, INCAGN1949, GSK3174998 ou PF-04518600;

(f)um antagonista de CTLA-4, como ipilimumab (marca Yervoy) ou Tremelimumab (originalmente desenvolvido pela Pfizer, agora Medimmune);

(g)Fludarabina ou Citarabina;

(h)um agente de hipometilação, tal como análogos da citidina-por exemplo, 5-azacitidina (azacitidina) e 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina);



(i)um agente que sobrerregula a expressão de HER2, como gencitabina e tamoxifeno; ou

(j)um agente anti-CD20, como rituximab, obinutuzumab, Ibritumomab tiuxetan, tositumomab, Ofatumumab, Ocaratuzumab, Ocrelizumab e Veltuzumab.

[0154] Cada uma dessas classes de agente secundário é descrita em mais detalhes abaixo.

#### Inibidores de BTK

[0155] A BTK é uma tirosina cinase não receptora indispensável ao desenvolvimento, diferenciação e sinalização de linfócitos B. A ligação do antígeno ao receptor de antígeno das células B (BCR) desencadeia a sinalização que acaba levando à ativação das células B. Após o envolvimento e a ativação do BCR na membrana plasmática, a BTK fosforila o PLCG2 em vários sítios, iniciando a via de sinalização a jusante através da mobilização de cálcio, seguida pela ativação dos membros da família da proteína cinase C (PKC). A fosforilação de PLCG2 é realizada em estreita cooperação com a proteína BLNK ligadora de células B da proteína adaptadora [Yang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 94:604-609(1997); Rodriguez et al., J. Biol. Chem. 276:47982-47992(2001)].

[0156] A BTK atua como uma plataforma para reunir uma matriz diversificada de proteínas de sinalização e está implicada nas vias de sinalização do receptor de citocinas. Ela desempenha um papel importante na função das células imunes da imunidade inata e adaptativa, como um componente da via de receptores do tipo Toll (TLR). A via de TLR atua como um sistema primário de vigilância para a detecção de patógenos e é crucial para a ativação da defesa do hospedeiro [Horwood et al. J. Immunol. 176:3635-3641(2006)].

[0157] Outro papel fundamental para o BTK é a regulação da ativação de TLR9 nas células B esplênicas. Dentro da via de TLR, a BTK induz a fosforilação da tirosina de TIRAP, o que leva à degradação de TIRAP.

[0158] A BTK também desempenha um papel crítico na regulação da transcrição, pois está envolvida na via de sinalização que liga o TLR8 e o TLR9. Como resultado, a atividade de BTK induz a atividade de NF-kappa-B, que está envolvido na regulação da expressão de centenas de genes. Outros alvos transcricionais de BTK incluem ARID3A, NFAT e GTF2I; BTK é necessário para a formação de complexos funcionais de ligação a ARID3A DNA; enquanto a fosforilação transiente de BTK de GTF2I faz com que este se transloque para o núcleo para ligar elementos potenciadores reguladores para modular a expressão gênica [Rajaiya, Mol. Cell. Biol. 26:4758-4768(2006)].

[0159] A BTK tem um papel duplo na regulação da apoptose.

[0160] "Inibidor da BTK" significa qualquer composto químico ou molécula biológica que inibe a atividade de BTK. Por exemplo, agentes que impedem a atividade de cinase de BTK com um IC50 de 0,001 µM a cerca de 2 µM.

[0161] A atividade inibidora da enzima BTK pode ser medida, com base no protocolo fornecido pelo fabricante, usando Btk (Invitrogen Corporation) e o peptídeo Tyr1-Kit de Ensaio de Z'-LYTE™ Kinase (Invitrogen Corporation), que contém os seguintes reagentes: Peptídeo Tyr-1, fosfopeptídeo Thy-1, tampão 5x cinase, ATP, reagente de desenvolvimento B, tampão de desenvolvimento e reagente de parada. 5 µl/poço de uma solução de um inibidor de BTK pode ser diluído com dimetilsulfóxido (DMSO) ou DMSO, e 10 µl/poço da solução de mistura de substrato/enzima dispensada em uma placa de ensaio de 96 poços e uma reação realizada por 20 minutos a 30 °C. A solução de mistura de substrato/enzima pode ser preparada por diluição com o tampão de cinase (DL-ditiotreitol (DTT, 2,7 mM), 1,33x de tampão de cinase) para fornecer uma concentração final para o peptídeo Tyr-1 de 4 µM e uma concentração final de BTK de 5 nM. 5 µl/poço do trifosfato de adenosina (ATP, concentração final = 36 µM) podem ser adicionados e uma reação realizada por 1 hora a 30°C. Após a conclusão da reação, 10 µl, de uma solução de desenvolvimento,

fornecida pela diluição do reagente de desenvolvimento B para 128x usando o tampão de desenvolvimento, podem ser adicionados e uma reação realizada por uma hora adicional a 30°C. A reação enzimática pode ser interrompida adicionando 10 µl, da solução de parada. A intensidade de fluorescência a 445 nm e 520 nm em cada poço pode ser medida usando um leitor de placas de fluorescência (PerkinElmer Inc.) e Analisador de Microplaca de Fusão Universal. A porcentagem de fosforilação pode ser determinada utilizando a razão entre a emissão a 445 nm (emissão de cumarina) e a emissão a 520 nm (emissão de fluoresceína) de acordo com o protocolo fornecido com o kit.

[0162] A porcentagem de inibição (%) por um inibidor de BTK pode ser calculada usando a seguinte equação.

$$\text{inibição percentual (\% da fosforilação)} = 1 - \{(AC - AX)/(AC - AB)\} \times 100$$

AX: % de fosforilação quando um inibidor de BTK foi adicionado

AB: % de fosforilação na ausência de adição de ATP (branco)

AC: % de fosforilação quando apenas DMSO foi adicionado (controle)

[0163] O valor de inibição de 50% (valor de IC50) para um inibidor de BTK pode ser determinado a partir da curva de inibição com base na % de inibição em cada concentração de um inibidor de BTK.

[0164] O BTKi Ibrutinib (Imbruvica) é um fármaco de molécula pequena que se liga covalentemente à tirosina cinase de Bruton (BTK) e tem sido usado para tratar câncer de células B como linfoma de células do manto, leucemia linfocítica crônica e macroglobulinemia de Waldenström, uma forma de linfoma de não Hodgkin.

[0165] Foi relatado que o Ibrutinib reduz a quimiotaxia das células da leucemia linfocítica crônica (CLL) em relação às quimiocinas CXCL12 e CXCL13, e inibe a adesão celular após estimulação no receptor de células B (BCR) (S Ponader et al. 2011, doi:10.1182/blood-2011-10-386417. PMID 22180443.) Além disso, o ibrutinib modula negativamente a expressão de CD20 visando o eixo de CXCR4/SDF1

(Pavlasova 2016, PMID 27480113. Juntos, esses dados são consistentes com um modelo mecanicista pelo qual o ibrutinib bloqueia a sinalização de BCR, que leva as células B a apoptose e/ou interrompe a migração e a adesão celular a microambientes protetores de tumores.

[0166] Em estudos pré-clínicos sobre células de leucemia linfocítica crônica (CLL), foi relatado que o ibrutinib promove apoptose, inibe a proliferação e também impede que as células CLL respondam aos estímulos de sobrevivência fornecidos pelo microambiente (Pavlasova 2016). Isso também leva a uma redução dos níveis de Mcl1 (proteína anti-apoptótica) nas células B malignas. O tratamento de células CLL ativadas com ibrutinib resultou na inibição da fosforilação da tirosina BTK e também eficazmente revogou as vias de sobrevivência a jusante ativadas por esta cinase, incluindo ERK1/2, PI3K e NF- $\kappa$ B. Além disso, o ibrutinib inibiu a proliferação de células CLL *in vitro*, bloqueando eficazmente os sinais de sobrevivência fornecidos externamente às células CLL a partir do microambiente, incluindo fatores solúveis (CD40L, BAFF, IL-6, IL-4 e TNF- $\alpha$ ), envolvimento de fibronectina e contato de células estromais.

[0167] Portanto, é vantajoso combinar um ADC, que tem como alvo uma primeira proteína alvo (FTP) com um BTKi, porque, por um lado, o ADC mata diretamente as células tumorais positivas para o FTP, enquanto, por outro lado, o BTKi irá interagir com células B malignas resultando na inibição da proliferação das células cancerígenas. Ao lado das células tumorais FTP(+), as células tumorais negativas FTP em proximidade com células tumorais FTP (+) serão potencialmente mortas pelo mecanismo de observação do dímero PBD liberado após a morte celular das células FTP(+). Portanto, o ADC irá matar diretamente as células tumorais.

[0168] Além disso, as indicações são de que o BTKi reduz a mobilidade das células tumorais e direciona o equilíbrio regulatório dessas células para a apoptose. Acredita-se que essas alterações induzidas pelo BTKi tornem as células tumorais mais

suscetíveis à morte medicada por ADC direta e indireta.

[0169] Para mostrar que os ADCs funcionam sinergicamente com o BTKi, um painel de linhagens de células FTP(+) será cotratada com uma faixa de concentração de ambos, o ADC e o BTK1. Como controles negativos, o mesmo painel de linhagens celulares será tratado com uma faixa de concentrações de BTKi ou com uma faixa de concentração de ADC e veículo. Após a incubação, dois parâmetros serão medidos: a quantidade de FTP de superfície (conforme determinado por citometria de fluxo) e a citotoxicidade *in vitro* das combinações (conforme determinado pelos ensaios de MTS). Para determinar a citotoxicidade, a viabilidade celular é medida adicionando MTS por poço e incubando por 4 horas a 37°C. A porcentagem de viabilidade celular é calculada em comparação com o controle não tratado. A sinergia citotóxica é calculada transformando os dados de viabilidade celular na fração afetada e calculando o índice de combinação usando o programa de análise CalcuSyn.

[0170] BTKi adequado para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem:

- (1) 9-(1-acriloil-3-azetidínil)-6-amino-7-(4-fenóxi-fenil)-7, 9-di-hidro-8H-purin-8-ona,
- (2) 6-amino-9-[(3R)-1-[(2E)-4-(dimetilamino)-2-butenóil]-3-pirrolidinil]-7-(4-fenóxi-fenil)-7,9-di-hidro-8H-purin-8-ona,
- (3) 9-[(1-acriloil-4-piperidinil)metil]-6-amino-7-(4-fenóxi-fenil)-7,9-di-hidro-8H-purin-8-ona,
- (4) 6-amino-9-[(3R)-1-(2-butenóil)-3-pirrolidinil]-7-(4-fenóxi-fenil)-7,9-di-hidro-8H-purin-8-ona,
- (5) 6-amino-9-[(3 S)-1-[(2E)-4-(dimetilamino)-2-butenóil]-3-pirrolidinil]-7-(4-fenóxi-fenil)-7,9-di-hidro-8H-purin-8-ona,
- (6) 6-amino-7-[4-(3-cloro-fenóxi)fenil]-9-[(3R)-1-[(2E)-4-(dimetilamino)-2-butenóil]-3-pirrolidinil]-7,9-di-hidro-8H-purin-8-ona,

(7) 6-amino-9-[1-(2-butinoil)-3-pirrolidinil]-7-(4-fenóxi-fenil)-7,9-di-hidro-8H-purin-8-ona, e

(8) 6-amino-9-{1-[(2E)-4-(dimetilamino)-2-butenoil]-3-pirrolidinil}-7-(4-fenóxi-fenil)-7,9-di-hidro-8H-purin-8-ona.

[0171] Os inibidores de BTK preferidos para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem (o Ibrutinib sendo o mais preferido):

a) Ibrutinib (Imbruvica)

i. Número CAS → 936563-96-1

(Consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Referência NCBI Pubchem → 24821094

(consulte <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

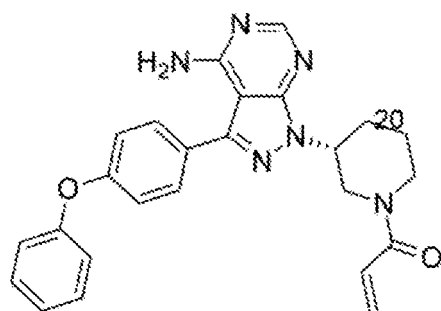
iii. Referência IUPHAR/BPS → 6912

(consulte <http://www.guidetopharmacology.org/>)

iv. Identificador exclusivo de ingrediente (UNII) → 1X70OSD4VX

(consulte

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



Fórmula I, Ibrutinib: 1-[(3R)-3-[4-Amino-3-(4-fenóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il]piperidin-1-il]prop-2-en-1-ona

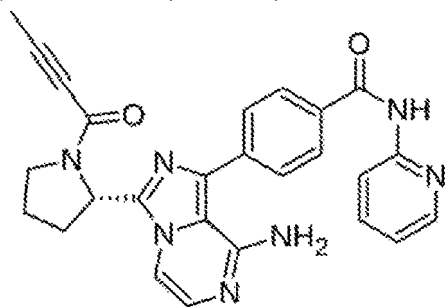
b) Acalabrutinib/ACP-196

i. Número CAS → 1420477-60-6

(Consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Chemspider → 36764951

(consulte [https:// http://www.chemspider.com/](https://http://www.chemspider.com/))

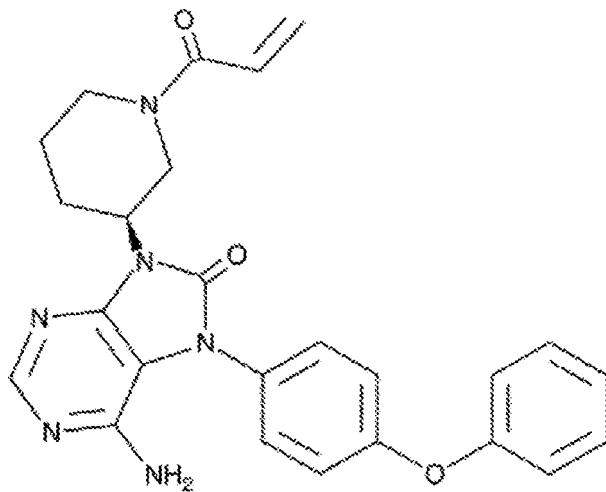


Fórmula II, Acalabrutinib: 4-{8-Amino-3-[(2S)-1-(2-butinoil)-2-pirrolidinil]imidazo[1,5-a]pirazin-1-il}-N-(2-piridinil)benzamida

c)ONO/GS-4059

i. Número CAS → 1351635-67-0

(Consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



Fórmula III, ONO/GS-4059: 6-amino-7,9-di-hidro-9-[(3S)-1-(1-oxo-2-propen-1-il)-3-piperidinil]-7-(4-fenóxi-fenil)-8H-purina-8-ona

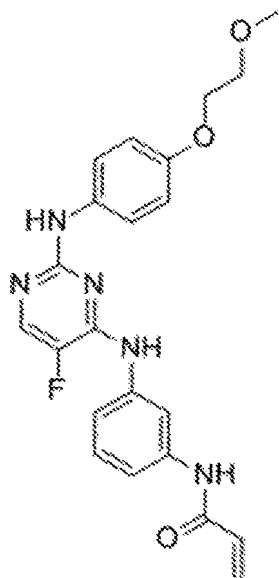
d)Spebrutinib/AVL-292/CC-292

i. Número CAS → 1202757-89-8

(consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. PubChem ID → 59174488

(consulte <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

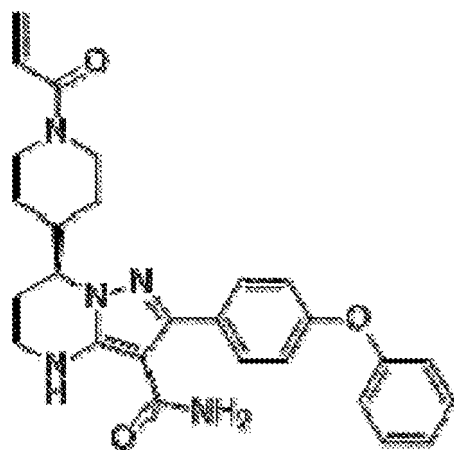


Fórmula IV, Spebrutinib: N-[3-({5-fluoro-2-[4-(2-metóxi-etóxi)anilino]pirimidin-4-il}amino)fenil]prop-2-enamida

e) BGB-3111 (Zanubrutinib)

i. Número CAS → 1691249-45-2

(consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



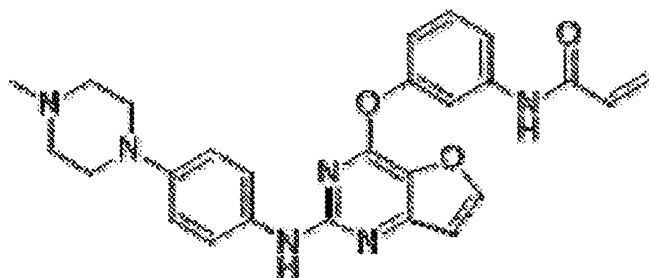


Fórmula V, Zanubrutinib: (7S)-4,5,6,7-Tetra-hidro-7-[1-(1-oxo-2-propen-1-il)-4-piperidinil]-2-(4-fenóxi-fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxamida

f)HM71224 (Poseltinib)

i.Número CAS → 1353552-97-2

(consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



Fórmula VI, Poseltinib: N-(3-((2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)furo[3,2-d]pirimidin-4-il)oxi)fenil)acrilamida

-----

[0172] Em algumas modalidades, o polipeptídeo BTK corresponde ao n°. de acessão Genbank CAA41728, versão n°. CAA41728.1, data da atualização do registro: 2 de fevereiro de 2011 10:07 h. Em uma modalidade, o ácido nucleico que codifica o polipeptídeo BTK corresponde ao n° de acessão Genbank X58957, versão n°. X58957.1, data da atualização do registro: 2 de fevereiro de 2011 10:07 h. Em algumas modalidades, o polipeptídeo BTK corresponde ao número de acesso Uniprot/Swiss-Prot N° Q06187.

#### Antagonistas de PD1

[0173] O receptor de morte programada I (PD1) é um receptor imuno-inibidor que é expresso principalmente nas células T e B ativadas. Demonstrou-se que a interação com seus ligantes atenua as respostas das células T *in vitro* e *in vivo*. Foi demonstrado que o bloqueio da interação entre PD1 e um de seus ligantes, PD-L1, aumenta a imunidade de células T CD8+ específicas do tumor e pode, portanto, ser útil na remoção de células tumorais pelo sistema imunológico.

[0174] PD1 (codificado pelo gene *Pdcd1*) é um membro da superfamília de

imunoglobulinas relacionado a CD28 e CTLA-4. Demonstrou-se que PD1 inibiria a sinalização do receptor de antígeno após o acoplamento de seus ligantes (PD-L1 e/ou PD-L2). A estrutura de PD1 de murino foi resolvida, bem como a estrutura de co-cristal de PD1 de camundongo com PD-L1 humana (Zhang, X., et al., (2004) *Immunity* 20: 337-347; Lin, et al., (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 3011-6). PD1 e membros da família semelhantes são glicoproteínas transmembranares do tipo I que contêm um domínio do tipo Variável de Ig (tipo V) responsável pela ligação ao ligante e uma cauda citoplasmática responsável pela ligação das moléculas de sinalização. A cauda citoplasmática de PD1 contém dois motivos de sinalização à base de tirosina, um ITIM (motivo de inibição à base de tirosina imunoreceptora) e um ITSM (motivo de troca à base de tirosina imunoreceptora).

[0175] Em humanos, a expressão de PD1 (em linfócitos infiltrantes de tumores) e/ou PD-L1 (em células tumorais) foi encontrada em várias biópsias de tumores primárias avaliadas por imuno-histoquímica. Esses tecidos incluem câncer de pulmão, fígado, ovário, colo do útero, pele, cólon, glioma, bexiga, mama, rim, esôfago, estômago, célula escamosa oral, célula urotelial e pâncreas, além de tumores de cabeça e pescoço (Brown, J. A., et al., (2003) *J Immunol.* 170: 1257-1266; Dong H., et al., (2002) *Nat. Med.* 8: 793-800; Wintterle, et al., (2003) *Cancer Res.* 63: 7462-7467; Strome, S. E., et al., (2003) *Cancer Res.* 63: 6501-6505; Thompson, R.H., et al., (2006) *Cancer Res.* 66: 3381-5; Thompson, et al., (2007) *Clin. Cancer Res.* 13: 1757-61; Nomi, T., et al., (2007) *Clin. Cancer Res.* 13: 2151-7). O mais impressionante é que a expressão do ligante de PD nas células tumorais tem sido correlacionada ao mau prognóstico dos pacientes com câncer em vários tipos de tumor (revisado em Okazaki e Honjo, (2007) *Int. Immunol.* 19: 813-824).

[0176] Até o momento, numerosos estudos mostraram que a interação de PD1 com seus ligantes (PD-L1 e PD-L2) leva à inibição da proliferação de linfócitos *in vitro* e *in vivo*. O bloqueio da interação de PD1/PD-L1 pode levar a uma imunidade

aumentada de células T específicas de tumor e, portanto, ser útil na remoção de células tumorais pelo sistema imunológico. Para resolver esse problema, vários estudos foram realizados. Em um modelo de murino de câncer pancreático agressivo (Nomi, T., et al. (2007) Clin. Cancer Res. 13: 2151-2157), foi demonstrada a eficácia terapêutica do bloqueio de PD1/PD-L1. A administração de anticorpo dirigido a PD1 ou PD-L1 inibiu significativamente o crescimento do tumor. O bloqueio de anticorpos promoveu eficazmente a infiltração de células T CD8+ reativas no tumor, resultando na sobreexpressão de efetores antitumorais, incluindo gama IFN, perforina de banda de granzima. Além disso, os autores mostraram que o bloqueio de PD1 pode ser eficazmente combinado com quimioterapia para produzir um efeito sinérgico. Em outro estudo, usando um modelo de carcinoma de células escamosas em camundongos, o bloqueio de anticorpos PD1 ou PD-L1 inibiu significativamente o crescimento tumoral (Tsushima, F., et al., (2006) Oral Oncol. 42: 268-274).

[0177] “Antagonista de PD1” significa qualquer composto químico ou molécula biológica que estimula uma reação imune através da inibição da sinalização de PD1.

[0178] Para examinar a extensão da potencialização, por exemplo, da atividade de PD1, amostras ou ensaios compreendendo um dado, por exemplo, proteína, gene, célula ou organismo, são tratadas com um potencial agente ativador ou inibidor e são comparadas com amostras de controle tratadas com uma molécula de controle inativa. As amostras de controle recebem um valor relativo de atividade de 100%. A inibição é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 90% ou menos, tipicamente 85% ou menos, mais tipicamente 80% ou menos, mais tipicamente 75% ou menos, geralmente 70% ou menos, mais geralmente 65% ou menos, geralmente 60% ou menos, tipicamente 55% ou menos, geralmente 50% ou menos, mais geralmente 45% ou menos, mais geralmente 40% ou menos, de preferência 35% ou menos, com mais preferência 30% ou menos, ainda com mais preferência 25% ou menos e, com mais preferência, menos de 20%. A ativação é

alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 110%, geralmente pelo menos 120%, mais geralmente pelo menos 140%, mais geralmente pelo menos 160%, geralmente pelo menos 180%, mais frequentemente pelo menos duas vezes, na maioria das vezes pelo menos 2,5 vezes, geralmente pelo menos 5 vezes, mais geralmente pelo menos 10 vezes, de preferência pelo menos 20 vezes, com mais preferência pelo menos 40 vezes e com mais preferência mais de 40 vezes mais.

[0179] A combinação de um ADC, que tem como alvo uma primeira proteína alvo (FTP) com inibidores de PD1, é vantajosa, porque, por um lado, o ADC mata diretamente as células tumorais FTP positivas, enquanto, por outro lado, o inibidor de PD1 envolve o sistema imune do próprio paciente para eliminar as células cancerosas. Ao lado das células tumorais FTP(+), as células tumorais FTP negativas próximas às células tumorais FTP (+) serão potencialmente mortas pelo mecanismo de observação do dímero de PBD liberado após a morte celular de células CD25(+). Portanto, o ADC mata diretamente as células tumorais.

[0180] A liberação resultante de antígenos associados a tumores de células que são mortas com o dímero de PBD acionará o sistema imunológico, que será ainda mais potencializado pelo uso de inibidores programados da proteína 1 de morte celular (PD1), expressos em uma grande proporção de linfócitos infiltrantes de tumores (TILs) de muitos tipos diferentes de tumores. O bloqueio da via de PD1 pode melhorar as respostas imunológicas antitumorais contra os antígenos liberados pelos tumores mortos pelo ADC, diminuindo o número e/ou a atividade supressora das células TReg intratumorais.

[0181] A principal função de PD1 é limitar a atividade das células T no momento de uma resposta anti-inflamatória à infecção e limitar a autoimunidade. A expressão de PD1 é induzida quando as células T são ativadas e a ligação de um de seus próprios ligantes inibe as quinases envolvidas na ativação das células T.

Portanto, no ambiente tumoral, isso pode se traduzir em uma grande resistência imune, porque muitos tumores são altamente infiltrados com células TReg que provavelmente suprimem ainda mais as respostas imunes efectoras. Este mecanismo de resistência é aliviado pelo uso de inibidores de PD1 em combinação com o ADC.

[0182] Antagonistas de PD1 adequados para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem:

a)um antagonista de PD1 que inibe a ligação de PD1 aos seus parceiros de ligação ao ligante.

b)um antagonista de PD1 que inibe a ligação de PD1 a PD-L1.

c)um antagonista de PD1 que inibe a ligação de PD-1 a PDL2.

d)um antagonista de PD1 que inibe a ligação de PD-1 a PDL1 e PDL2.

e)um antagonista de PD1 das partes (a) a (d) que é um anticorpo.

[0183] Antagonistas de PD1 específicos adequados para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem:

a)pembrolizumab (marca Keytruda)

i.Número CAS → 1374853-91-4

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Referência NCBI Pubchem → 254741536

(ver <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

iii.Referência do DrugBank → DB09037

(ver <https://www.drugbank.ca/>)

iv.Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → DPT0O3T46P

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

b)nivolumab (marca Opdivo)

i.Número CAS → 946414-94-4

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Referência do DrugBank → DB09035

(ver <https://www.drugbank.ca/>)

c)MEDI0680 (anteriormente AMP-514)

-Como descrito nos documentos WO2014/055648, WO2015/042246, WO2016/127052, WO2017/004016, WO2012/145493, US8609089, WO2016/007235, WO2016/011160; Int. J. Mol. Sci. julho de 2016; 17(7): 1151, doi: 10.3390/ijms17071151; and Drug Discov Today, Setembro de 2015;20(9):1127-34. doi: 10.1016/j.drudis.2015.07.003.

-Ver também clinical trials NCT02271945 and NCT02013804 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

d)PDR001 (spartalizumab)

i.Número CAS → 1935694-88-4

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → QOG25L6Z8Z

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

-Conforme descrito nos documentos WO2016/007235 e WO2016/011160

-Código thesaurus NCI → C121625

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/> )

e)Camrelizumab [INCSHR-1210] (Incyte)

i.Número CAS → 1798286-48-2

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → 73096E137E

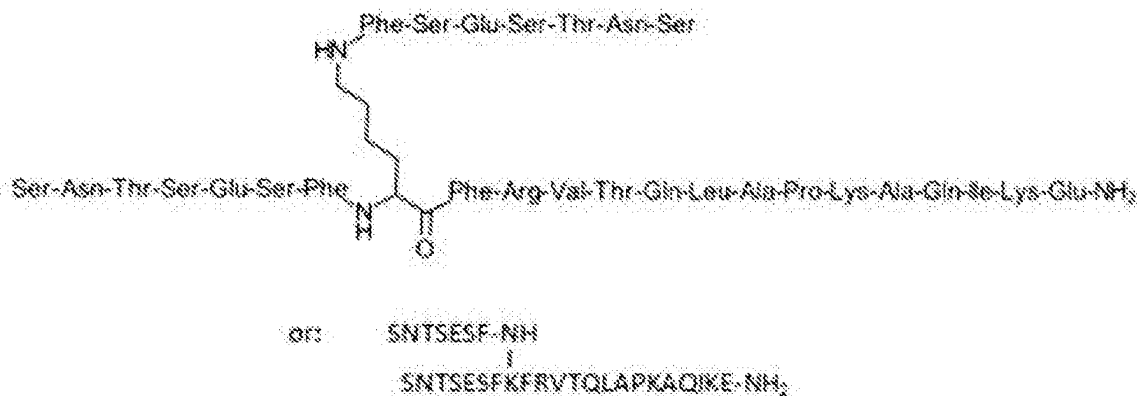
(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem->

UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)

f)AUNP12 (peptídeo) (Aurigene/PierreFabre)

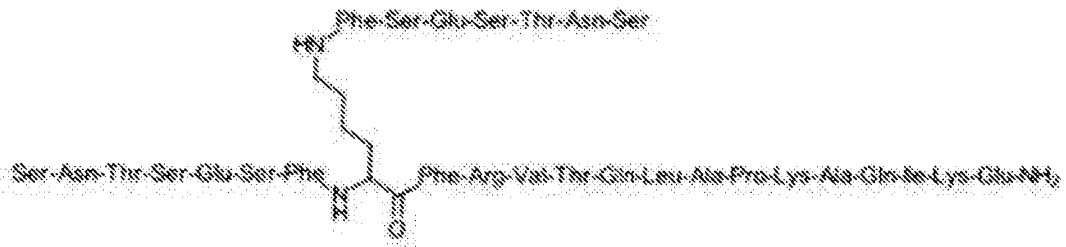
i.Divulgado no documento WO2011/161699 como SEQ ID NO:49 também conhecido como “composto 8”, ver o Exemplo 2 na página 77 da publicação A2 do



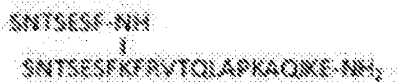
documento WO2011/161699.

ii.Número CAS → 1353563-85-5

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



ou



g)Pidilizumab (CT-01 1)

i.Número CAS → 1036730-42-3

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Identificado ou Iusivo de Ingrediente (UNII) → B932PAQ1BQ

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem->

UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)

h) Cemiplimab (anteriormente REGN-2810, SAR-439684)

i. Número CAS → 1801342-60-8

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → 6QVL057INT

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem->

UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)

- Conforme descrito no documento WO2016/007235

- Código thesaurus NCI → C121540

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/> )

i) BGB-A317 (Tislelizumab)

i. Conforme descrito no documento US 9.834.606 B2

ii. Ver ensaio clínico NCT03209973 (<https://clinicaltrials.gov/>)

iii. Código de thesaurus NCI C121775

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/> )

j) BGB-108

- Ver documentos WO2016/000619 e US8735553

k) AMP-224

ver ensaio clínico NCT02298946, <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

-----

[0184] Em algumas modalidades, o polipeptídeo de PD1 corresponde ao n°. de acesso ao Genbank. AAC51773, versão n°. AAC51773.1, data da atualização do registro: 23 de junho de 2010 09:24 h. Em uma modalidade, o ácido nucleico que codifica o polipeptídeo de PD1 corresponde ao n°. de acesso ao Genbank. U64863, versão n°. U64863.1, data da atualização do registro: 23 de junho de 2010 09:24 h. Em algumas modalidades, o polipeptídeo de PD1 corresponde ao número de acesso



Uniprot/Swiss-Prot Q15116.

#### Antagonistas de PD-L1

[0185] “Antagonista de PD-L1” significa qualquer composto químico ou molécula biológica que estimula uma reação imune através da inibição da sinalização de PD-L1.

[0186] Para examinar a extensão da potencialização, por exemplo, da atividade de PD-L1, amostras ou ensaios compreendendo um dado, por exemplo, proteína, gene, célula ou organismo, são tratadas com um potencial agente ativador ou inibidor e são comparadas com amostras de controle tratadas com uma molécula de controle inativa. As amostras de controle recebem um valor relativo de atividade de 100%. A inibição é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 90% ou menos, tipicamente 85% ou menos, mais tipicamente 80% ou menos, mais tipicamente 75% ou menos, geralmente 70% ou menos, mais geralmente 65% ou menos, geralmente 60% ou menos, tipicamente 55% ou menos, geralmente 50% ou menos, mais geralmente 45% ou menos, mais geralmente 40% ou menos, de preferência 35% ou menos, com mais preferência 30% ou menos, ainda com mais preferência 25% ou menos e, com mais preferência, menos de 20%. A ativação é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 110%, geralmente pelo menos 120%, mais geralmente pelo menos 140%, mais geralmente pelo menos 160%, geralmente pelo menos 180%, mais frequentemente pelo menos duas vezes, na maioria das vezes pelo menos 2,5 vezes, geralmente pelo menos 5 vezes, mais geralmente pelo menos 10 vezes, de preferência pelo menos 20 vezes, com mais preferência pelo menos 40 vezes e com mais preferência mais de 40 vezes mais.

[0187] A combinação de um ADC, que tem como alvo os linfomas e leucemias positivos para a primeira proteína alvo (FTP) e os inibidores de PD-L1 é vantajosa porque, por um lado, o ADC mata diretamente as células tumorais FTP positivas,

enquanto, por outro lado, o inibidor de PD-L1 ativará o sistema imunológico do paciente para eliminar as células cancerosas.

[0188] Próximo das células tumorais FTP(+), as células tumorais negativas alvos próximas das células tumorais FTP(+) serão potencialmente mortas pelo mecanismo de observação do dímero PBD liberado após a morte celular das células FTP(+). Portanto, o ADC mata diretamente as células tumorais. A liberação resultante de antígenos associados a tumores de células que são mortas com o dímero de PBD acionará o sistema imunológico, que será ainda mais potencializado pelo uso de inibidores do ligante da proteína 1 de morte celular programada (PD-L1, também conhecido como B7-H1 ou CD274 ).

[0189] O PD-L1 é geralmente sorregulado na superfície da célula tumoral de muitos tumores humanos diferentes. A interferência no ligante de PD1 expressa no tumor evitará a inibição imunológica no microambiente tumoral e, portanto, o bloqueio da via de PD1 usando inibidores de PDL1 pode melhorar as respostas imunes antitumorais contra os antígenos liberados pelos tumores mortos pelo ADC.

[0190] A combinação de um ADC, que tem como alvo uma primeira proteína alvo (FTP) com inibidores de PD1, é vantajosa, porque, por um lado, o ADC mata diretamente as células tumorais positivas para FTP, enquanto, por outro lado, o inibidor de PD1 envolve o sistema imune do próprio paciente para eliminar as células cancerosas. Próximo das células tumorais FTP(+), as células tumorais FTP negativas próximas das células tumorais FTP (+) serão potencialmente mortas pelo mecanismo de observação do dímero de PBD liberado após a morte celular de células CD19(+) ou CD22(+). Portanto, o ADC mata diretamente as células tumorais.

[0191] Os antagonistas de PD-L1 adequados para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem os antagonistas de PD-L1 que:

- (a)são antagonistas de ligação a PD-L1;
- (b)inibem a ligação de PD-L1 a PD1;

- (c) inibem a ligação de PD-L1 a B7-1;
- (d) inibem a ligação de PD-L1 a PD1 e B7-1;
- (e) são anticorpos anti-PD-L1.

[0192] Antagonistas de PD-L1 específicos adequados para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem:

a) atezolizumab (MPDL3280A, marca Tecentriq)

i. Número CAS → 1380723-44-3

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Referência do DrugBank → DB11595

(ver <https://www.drugbank.ca/>)

iii. Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → 52CMI0WC3Y

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

b) BMS-936559 / MDX-1105

I. Número CAS → 1422185-22-5

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

II. ver ensaio clínico NCT02028403, <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

III. Ver documento WO2007/005874 para sequências de anticorpos, em particular o:

i. Anticorpo tendo:

a. VH CDR1 = DYGFS

b. VH CDR2 = WITAYNGNTNYAQLQG

c. VH CDR3 = DYFYGMDV

d. VL CDR1 = RASQSVSSYLV

e. VL CDR2 = DASNRAT

f. VL CDR3 = QQRSNWPRT

## ii. Anticorpo tendo:

- a. VH CDR1 = TYAIS
- b. VH CDR2 = GIPIFGKAHYAQKFQG
- c. VH CDR3 = KFHFVSGSPFGMDV
- d. VL CDR1 = RASQSVSSYLA
- e. VL CDR2 = DASNRAT
- f. VL CDR3 = QQRSNWPT

## iii. Anticorpo tendo:

- a. VH CDR1 = SYDVH
- b. VH CDR2 = WLHADTGITKFSQKFQG
- c. VH CDR3 = ERIQLWFDY
- d. VL CDR1 = RASQGISSWLA
- e. VL CDR2 = AASSLQS
- f. VL CDR3 = QQYNSYPYT
- c) durvalumab/MEDI4736

## i. Número CAS → 1428935-60-7

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

## ii. Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → 28X28X9OKV

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

## iii. Sequência de VH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWV  
 ANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWF  
 GELAFDYWGQGTLVTVSS

## iv. Sequência de VL

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLA~~WYQQKPGQAPRLLIYD~~

ASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIK

d)Avelumab/MSB0010718C

i.Número CAS → 1537032-82-8

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → KXG2PJ551I

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

-----

[0193] Em algumas modalidades, o polipeptídeo de PD-L1 corresponde ao nº. de acesso ao Genbank. AAF25807, versão nº. AAF25807.1, data da atualização do registro: 10 de março de 2010 22:14 h. Em uma modalidade, o ácido nucleico que codifica o polipeptídeo de PD1 corresponde ao nº. de acesso ao Genbank. AF177937, versão nº. AF177937.1, data da atualização do registro: 10 de março de 2010 22:14 h. Em algumas modalidades, o polipeptídeo de PD1 corresponde ao número de acesso Uniprot/Swiss-Prot Q9NZQ7.

#### Agonistas de G1TR

[0194] O termo “receptor de TNF induzido por glicocorticoide” (abreviado aqui como “G1TR”), também conhecido como superfamília do receptor de TNF 18 (TNFRSF18, CD357), TEASR e 312C2, como usado aqui, refere-se a um membro do fator de necrose tumoral/família de receptores do fator de crescimento do nervo. A G1TR é uma proteína transmembranar do tipo I de 241 aminoácidos caracterizada por três pseudorrepetições de cisteína no domínio extracelular e protege especificamente a apoptose induzida por receptor de células T, embora não proteja as células de outros sinais apoptóticos, incluindo desencadeamento de Fas, tratamento com dexametasona ou irradiação UV (Nocentini, G., et al. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:6216-622).

[0195] A ativação de GITR aumenta a resistência a tumores e infecções virais, está envolvida em processos autoimunes/inflamatórios e regula o extravasamento de leucócitos (Nocentini supra; Cuzzocrea, et al. (2004) J Leukoc. Biol. 76:933-940; Shevach, et al. (2006) Nat. Rev. Immunol. 6:613-618; Cuzzocrea, et al. (2006) J Immunol. 177:631-641; e Cuzzocrea, et al. (2007) FASEB J 21 :117-129). Em modelos de camundongos com tumor, o anticorpo agonista de GITR, DTA-I, foi combinado com um anticorpo antagonista de CTLA-4, e mostrou resultados sinérgicos na regressão completa do tumor de tumores em estágios avançados em alguns camundongos do grupo de teste (Ko, et al. (2005) J Exp. Med. 7:885-891).

[0196] As sequências de ácidos nucleicos e aminoácidos de GITR humana (hGITR), das quais existem três variantes de splice, são conhecidas e podem ser encontradas, por exemplo, nos n.ºs. de acesso ao Genbank gi: 40354198, gi: 23238190, gi: 23238193 e gi: 23238196.

[0197] "Agonista de GITR" significa qualquer composto químico ou molécula biológica que estimula uma reação imune através da ativação da sinalização de GITR. Também estão contempladas proteínas GITR-L solúveis, um parceiro de ligação a GITR.

[0198] Para examinar a extensão da potencialização de, por exemplo, atividade de GITR, amostras ou ensaios compreendendo um dado, por exemplo, proteína, gene, célula ou organismo, são tratadas com um potencial agente ativador ou inibidor e são comparadas com amostras de controle tratadas com uma molécula de controle inativa. As amostras de controle recebem um valor relativo de atividade de 100%. A inibição é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 90% ou menos, tipicamente 85% ou menos, mais tipicamente 80% ou menos, mais tipicamente 75% ou menos, geralmente 70% ou menos, mais geralmente 65% ou menos, geralmente 60% ou menos, tipicamente 55% ou menos, geralmente 50% ou menos, mais geralmente 45% ou menos, mais geralmente 40% ou menos, de

preferência 35% ou menos, com mais preferência 30% ou menos, ainda com mais preferência 25% ou menos e, com mais preferência, menos de 20%. A ativação é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 110%, geralmente pelo menos 120%, mais geralmente pelo menos 140%, mais geralmente pelo menos 160%, geralmente pelo menos 180%, mais frequentemente pelo menos duas vezes, na maioria das vezes pelo menos 2,5 vezes, geralmente pelo menos 5 vezes, mais geralmente pelo menos 10 vezes, de preferência pelo menos 20 vezes, com mais preferência pelo menos 40 vezes e com mais preferência mais de 40 vezes mais.

[0199] É vantajoso combinar um ADC, que tem como alvo os linfomas e leucemias positivos para a primeira proteína alvo (FTP) com agonistas de G1TR, porque, por um lado, o ADC mata diretamente as células tumorais positivas de FTP, enquanto, por outro lado, o agonista de G1TR envolve o próprio sistema imunológico do paciente para eliminar as células cancerosas. Próximo das células tumorais FTP(+), as células tumorais negativas alvos próximas das células tumorais FTP(+) serão potencialmente mortas pelo mecanismo de observação do dímero PBD liberado após a morte celular das células FTP(+). Assim, o ADC irá matar diretamente o tumor. A liberação resultante de antígenos associados a tumores de células mortas com o dímero de PBD acionará o sistema imunológico, o qual será potencializado ainda mais pelo uso de um agonista de G1TR.

[0200] A G1TR (proteína relacionada ao TNFR induzida por glucocorticoide) é expressa transitoriamente em células T ativadas e expressas constitutivamente em altos níveis em T-reg com indução adicional após a ativação. A ligação de G1TR através do seu ligante G1TRL estimula a proliferação e a função de células T CD4+ efectoras e reguladoras. Isso promove a sobrevivência das células T e a diferenciação em células efectoras, enquanto anula a supressão. Portanto, será benéfico direcionar um tumor FTP(+) com o ADC, causando a morte celular antigênica, enquanto o

agonista de GITR induz uma resposta imune mais forte e durável.

[0201] Os agonistas de GITR específicos adequados para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem:

a)MEDI1873, uma proteína de fusão de ligante GITR desenvolvida por MedImmune

-Ver o documento WO2016/196792, US20160304607

-Código thesaurus NCI → C124651

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser> )

-Ver também o ensaio clínico NCT023126110 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

-Ver Tigue NJ, Bamber L, Andrews J, et al. MEDI1873, um agonista hexamérico estabilizado e potente de GITR humana com potencial alvo para células T reguladoras. Oncoimmunology. 2017;6(3):e1280645. doi:10.1080/2162402X.2017.1280645.

b)INCAGN1876, é um anticorpo agonista que tem como alvo a proteína relacionada a TNFR induzida por glicocorticoide, ou GITR. Descoberta durante uma colaboração com Ludwig Cancer Research. INCAGN1876 está sendo co-desenvolvido com a Incyte

-Ver ensaios clínicos NCT02583165 e NCT03277352 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

c)TRX518, um mAb humanizado de IgG1 anti-GITR aglicosilado (Fc desativado) com atividade imunomoduladora desenvolvido por Leap Therapeutics

oVer documento WO2006/105021 para as sequências 58, 60-63; e EP2175884 sequências 1-7:

▪VL compreendendo a sequência (CDR sublinhada):

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVGTNVAWYQQKPGQAPRLLIYSA  
SYRYSGLPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNTDPLTFGGGTKVEIK



- VH compreendendo a sequência (CDR sublinhada):

QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGGFSLSTSGMGVGWIRQPPGKALEWLA  
HIWWDDDKYYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARTRRYFPFA  
YWGQGTLVTVS

QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGGFSLSTSGMGVGWIRQPPGKALEWLA  
HIWWDDDKYYQPSLKSRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARTRRYFPFA  
YWGQGTLVTVS

○ Ver ensaios clínicos NCT01239134 e NCT02628574 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

○ Código thesaurus NCI → C95023

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser>)

d) GWN323, um anticorpo monoclonal agonístico anti-GITR, que ativa as GITRs encontradas em vários tipos de células T. GWN323 é desenvolvido pela Novartis

- Ver documento WO2016/196792

- Código thesaurus NCI → C128028

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser> )

- Ver o ensaio clínico NCT02740270 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

e) MK-1248, um anticorpo monoclonal agonístico (MoAb) do receptor de fator de necrose tumoral induzido por glicocorticoide (GITR) de IgG4 humana com função efetora significativamente reduzida

- Ver o ensaio clínico NCT02553499 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

- MK-1248 tem a mesmo CDR que o MK4166 (ver Sukumar et al., Cancer Res. 2017)

f) MK-4166, um anticorpo monoclonal agonístico (MoAb) do receptor de fator de necrose tumoral (GITR) induzida por glucocorticoide de IgG1 anti-humana humanizado com potencial atividade imunomoduladora (ver Sukumar et al., Cancer

Res. 2017).

-Ver o ensaio clínico NCT02132754 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

-Ver Sukumar, et al., (2017), Cancer Research. 77. canres.1439.2016. 10.1158/0008-5472.CAN-16-1439.

-Código de thesaurus NCI C116065

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/> )

g)BMS-986156, um anticorpo monoclonal agonístico (GITR; membro 18 da superfamília do fator de necrose tumoral; TNFRSF18; CD357) do receptor de fator de necrose tumoral induzido por glicocorticoide anti-humano

-Ver o ensaio clínico NCT02598960 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

-Código de thesaurus NCI C132267

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/> )

-----

[0202] As sequências de anticorpos anti-GITR agonistas são fornecidas nos documentos WO2011/028683 e WO2006/105021.

-----

[0203] Em algumas modalidades, o polipeptídeo de GITR corresponde ao nº. de acesso ao Genbank AAD22635, versão nº. AAD22635.1, data da atualização do registro: 10 de março de 2010 21:42 h. Em uma modalidade, o ácido nucleico que codifica o polipeptídeo de GITR corresponde ao nº. de acesso ao Genbank. AF125304, versão nº. AF125304.1, data da atualização do registro: 10 de março de 2010 21:42 h. Em algumas modalidades, o polipeptídeo de GITR corresponde ao número de acesso Uniprot/Swiss-Prot Q9Y5U5.

#### Agonistas de OX40

[0204] OX40 (CD134; TNFRSF4) é um membro da superfamília de TNFR e é expresso por células T CD4 e CD8 durante a ativação específica do antígeno. A expressão de OX40 é amplamente transitória após a reticulação de TCR/CD3 e pela

presença de citocinas inflamatórias. Na ausência de sinais de ativação, relativamente poucos subconjuntos de células T maduras expressam OX40 em níveis biologicamente relevantes. A geração de respostas ótimas das células T CD8 “matadoras” requer a ativação do receptor de células T mais a co-estimulação, que pode ser fornecida através da ligação de OX40 usando um agonista de OX40. Esse mecanismo de ativação aumenta a diferenciação de células T e a função citolítica, levando a uma imunidade antitumoral aumentada. Portanto, será benéfico direcionar um tumor FTP(+) com o ADC, causando a morte celular antigênica, enquanto o agonista de OX40 induz uma resposta imune mais forte e durável.

[0205] O agonista de OX40 pode ser selecionado do grupo que consiste em um anticorpo de agonista de OX40, um fragmento de agonista de OX40L, um receptor oligomérico de OX40 e uma imunoadesina de OX40. Em algumas modalidades, o agonista de ligação ao OX40 é uma proteína OX40L-Fc trimérica.

[0206] Em algumas modalidades, o agonista de ligação de OX40 é um fragmento de agonista de OX40L compreendendo um ou mais domínios extracelulares de OX40L. Em algumas modalidades, o agonista de ligação ao OX40 é um anticorpo agonista de OX40 que se liga ao OX40 humano. Em algumas modalidades, o anticorpo agonista de OX40 esgota células que expressam OX40 humano. Em algumas modalidades, o anticorpo agonista de OX40 esgota células que expressam OX40 humano *in vitro*. Em algumas modalidades, as células são células T efetoras de CD4+. Em algumas modalidades, as células são células Treg. Em algumas modalidades, o esgotamento é por ADCC e/ou fagocitose. Em algumas modalidades, o esgotamento é pelo ADCC. Em algumas modalidades, o anticorpo agonista de OX40 liga OX40 humano com uma afinidade menor ou igual a cerca de 1 nM. Em algumas modalidades, o anticorpo agonista de OX40 aumenta a proliferação de células T efetoras de CD4+ e/ou aumenta a produção de citocinas pela célula T efetora de CD4+ em comparação com a proliferação e/ou produção de citocinas antes

do tratamento com anticorpo agonista de OX40 anti-humano. Em algumas modalidades, a citocina é interferon gama. Em algumas modalidades, o anticorpo agonista de OX40 aumenta a proliferação de células T de memória e/ou aumenta a produção de citocinas pela célula de memória. Em algumas modalidades, a citocina é interferon gama. Em algumas modalidades, o anticorpo agonista de OX40 inibe a função Treg. Em algumas modalidades, o anticorpo agonista de OX40 inibe a supressão de Treg da função de células T efectoras. Em algumas modalidades, a função de células T efectoras é a proliferação de células T efectoras e/ou a produção de citocinas. Em algumas modalidades, a célula T efetora é uma célula T efetora de CD4+. Em algumas modalidades, o anticorpo agonista de OX40 aumenta a transdução de sinal de OX40 em uma célula alvo que expressa OX40. Em algumas modalidades, a transdução de sinal de OX40 é detectada monitorando a sinalização a jusante de NFkB.

[0207] “Agonista de OX40” significa qualquer composto químico ou molécula biológica que estimula uma reação imune por meio da ativação da sinalização de OX40.

[0208] Para examinar a extensão da potencialização, por exemplo, da atividade de OX40, amostras ou ensaios compreendendo um dado, por exemplo, proteína, gene, célula ou organismo, são tratadas com um potencial agente ativador ou inibidor e são comparadas com amostras de controle tratadas com uma molécula de controle inativa. As amostras de controle recebem um valor relativo de atividade de 100%. A inibição é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 90% ou menos, tipicamente 85% ou menos, mais tipicamente 80% ou menos, mais tipicamente 75% ou menos, geralmente 70% ou menos, mais geralmente 65% ou menos, geralmente 60% ou menos, tipicamente 55% ou menos, geralmente 50% ou menos, mais geralmente 45% ou menos, mais geralmente 40% ou menos, de preferência 35% ou menos, com mais preferência 30% ou menos, ainda com mais

preferência 25% ou menos e, com mais preferência, menos de 20%. A ativação é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 110%, geralmente pelo menos 120%, mais geralmente pelo menos 140%, mais geralmente pelo menos 160%, geralmente pelo menos 180%, mais frequentemente pelo menos duas vezes, na maioria das vezes pelo menos 2,5 vezes, geralmente pelo menos 5 vezes, mais geralmente pelo menos 10 vezes, de preferência pelo menos 20 vezes, com mais preferência pelo menos 40 vezes e com mais preferência mais de 40 vezes mais.

[0209] É vantajoso combinar um ADC, que tem como alvo os linfomas e leucemias positivos para a primeira proteína alvo (FTP) com agonistas de OX40, porque, por um lado, o ADC mata diretamente as células tumorais FTP positivas, enquanto, por outro lado, o agonista de OX40 envolve o próprio sistema imunológico do paciente para eliminar as células cancerosas. Próximo das células tumorais FTP(+), as células tumorais negativas alvos próximas das células tumorais FTP(+) serão potencialmente mortas pelo mecanismo de observação do dímero PBD liberado após a morte celular das células FTP(+). Assim, o ADC irá matar diretamente o tumor. A liberação resultante de antígenos associados a tumores de células mortas com o dímero de PBD acionará o sistema imunológico, o que será ainda mais potencializado pelo uso de um agonista de OX40.

[0210] Os agonistas de OX40 específicos adequados para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem:

a) MEDI0562 (tcp Tavolixizumab, Tavolimab)

i. Número CAS → 1635395-25-3

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → 4LU9B48U4D

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem->

UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)

-Ver o ensaio clínico NCT02318394 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

-Conforme descrito nos documentos WO2015/095423, WO2015/153514, WO2016/073380 e WO2016/081384

-Código thesaurus NCI → C120041

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/> )

-Sequência de Cadeia Pesada:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCAVYGGSFSSGYWNWIRKHPGKGGLEYIGYI  
SYNGITYHNPSLKSRLTINRDTSKNQYSLQLNSVTPEDTAVYYCARYKYDYDGGHAM  
DYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN  
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE  
PKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV  
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL  
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG  
QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKS  
LSLSPG

-Sequência de Cadeia Leve:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTS  
KLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSALPWTFGQGTKVEIKR  
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT  
EQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN R GEC

b)MEDI6383 (Efizonerimod alfa)

i.Número CAS → 1635395-27-5

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → 1MH7C2X8KE

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem->

UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)

-Ver o ensaio clínico NCT02221960 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

-Conforme descrito nos documentos WO2015/095423, WO2016/081384, e WO2016/189124

-Código thesaurus NCI → C118282

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/> )

-Sequência de aminoácidos (Seq ID nº.17 do documento WO2016/189124):

ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKDQDKIEALSSKVQQLERSIGLKDAMADLEQKVLEMEASTQVSHRYPRIQSIKVQFTEYKKEKGFILTSQKEDEIMKVQNNSVIINCDFYLI SLKGYFSQEVNISLHYQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVYLVNVTDDNTSLDDFHVNGGELILIHQNPGEFCVL

c)MOXR0916 (também conhecido como RG7888, Pogalizumab), um anticorpo monoclonal humanizado anti-OX40

i.Número CAS → 1638935-72-4

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → C78148TF1D

(ver

[http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-](http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)

UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)

iii.Código de thesaurus NCI → C121376

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/> )

d)OX40mAb24 (9B12)

i.OX40mAb24 é uma versão humanizada de 9B12. 9B12 é um mAb anti-OX40

de IgG1 de murino direcionado contra o domínio extracelular de OX40 humano (CD134) (Weinberg, AD, et al. J Immunother 29, 575-585 (2006)).

ii.Ver o documento WO2016/057667 Seq ID nº.59 para a sequência OX40mAb24 VH, nº.29 para a sequência VL (nº.32 é uma VL alternativa):

Sequência de VH

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCAVYGGSFSSGYWNWIRKHPGKGGLEYIGYI  
SYNGITYHNPSLKSRLTINRDTSKNQYSLQLNSVTPEDTAVYYCARYKYDYDGGHAM  
DYWGQGTLVTVSS

Sequência de VL

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTS  
KLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSALPWTFGQGTKVEIK

e)INCAGN1949

i.Ver Gonzalez et al. 2016, DOI: 10.1158/1538-7445.AM2016-3204

ii.Ver o ensaio clínico NCT02923349 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

iii.As sequências de anticorpos são divulgadas no documento WO2016/179517 A1:

i.Em particular, um anticorpo compreendendo as sequências:

VH CDR1 → GSAMH

VH CDR2 → RIRSKANSYATAYAASVKG

VH CDR3 → GIYDSSGYDY

VL CDR1 → RSSQSLLHSNGYNYLD

VL CDR2 → LGSNRAS

VL CDR3 → MQALQTPLT

ii.Tal como, um anticorpo compreendendo as sequências:

VH →

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSGSAMHWVRQASGKGLEWV  
GRIRSKANSYATAYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTSGIYDS



SGYDYWGQGTLVTVSS

VL

→

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG  
NRASGVLPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTKVEIK

g) GSK3174998, um anticorpo (mAb) monoclonal anti-OX40 agonista de IgG1 humanizada

- Ver o ensaio clínico NCT02528357 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

h) PF-04518600 (PF-8600) é um anticorpo monoclonal (mAb) experimental e totalmente humano que tem como alvo a proteína OX40

- Ver patente [WO 2017/130076 A1](#)

-Ver ensaio clínico NCT02315066 em <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>-  
código thesaurus NCI → C121927

(ver <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/> )

-----

[0211] Em algumas modalidades, o polipeptídeo de OX40 corresponde ao n°. de acesso ao Genbank. CAA53576, versão n°. CAA53576.1, data da atualização do registro: 2 de fevereiro de 2011 10:10 h. Em uma modalidade, o ácido nucleico que codifica o polipeptídeo de OX40 corresponde ao n°. de acesso ao Genbank. X75962, versão n°. X75962.1, data da atualização do registro: 2 de fevereiro de 2011 10:10 h. Em algumas modalidades, o polipeptídeo de OX40 corresponde ao número de acesso Uniprot/Swiss-Prot P43489.

#### Antagonista de CTLA

[0212] CTLA4 (CD152) é expresso em células T ativadas e serve como um co-inibidor para manter as respostas das células T sob controle após a ativação de células T mediada por CD28. Acredita-se que o CTLA4 regula a amplitude da ativação precoce de células T ingênuas e de memória após o envolvimento do TCR e faça parte de uma via inibidora central que afeta a imunidade antitumoral e a autoimunidade.

CTLA4 é expresso exclusivamente em células T, e a expressão de seus ligantes CD80 (B7.1) e CD86 (B7.2) é amplamente restrita a células apresentadoras de antígenos, células T e outras células mediadoras imunológicas. Anticorpos anti-CTLA4 antagonistas que bloqueiam a via de sinalização de CTLA4 foram relatados como potencializando a ativação de células T. Um desses anticorpos, o ipilimumab, foi aprovado pelo FDA em 2011 para o tratamento de melanoma metastático. Outro anticorpo anti-CTLA4, tremelimumab, foi testado em estudos de fase III para o tratamento de melanoma avançado, mas não aumentou significativamente a sobrevida global dos pacientes em comparação com o padrão de atendimento (temozolomida ou dacarbazina) naquele momento.

[0213] “Agonista de CTLA4” significa qualquer composto químico ou molécula biológica que estimula uma reação imune através da inibição da sinalização de CTLA4.

[0214] Para examinar a extensão da potencialização, por exemplo, da atividade de CTLA4, amostras ou ensaios compreendendo um dado, por exemplo, proteína, gene, célula ou organismo, são tratadas com um potencial agente ativador ou inibidor e são comparadas com amostras de controle tratadas com uma molécula de controle inativa. As amostras de controle recebem um valor relativo de atividade de 100%. A inibição é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 90% ou menos, tipicamente 85% ou menos, mais tipicamente 80% ou menos, mais tipicamente 75% ou menos, geralmente 70% ou menos, mais geralmente 65% ou menos, geralmente 60% ou menos, tipicamente 55% ou menos, geralmente 50% ou menos, mais geralmente 45% ou menos, mais geralmente 40% ou menos, de preferência 35% ou menos, com mais preferência 30% ou menos, ainda com mais preferência 25% ou menos e, com mais preferência, menos de 20%. A ativação é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 110%, geralmente pelo menos 120%, mais geralmente pelo menos 140%, mais geralmente

pelo menos 160%, geralmente pelo menos 180%, mais frequentemente pelo menos duas vezes, na maioria das vezes pelo menos 2,5 vezes, geralmente pelo menos 5 vezes, mais geralmente pelo menos 10 vezes, de preferência pelo menos 20 vezes, com mais preferência pelo menos 40 vezes e com mais preferência mais de 40 vezes mais.

[0215] A combinação de um ADC, que tem como alvo os linfomas e leucemias positivos para a primeira proteína alvo (FTP) e os inibidores de CTLA4 é vantajosa, porque, por um lado, o ADC mata diretamente as células tumorais FTP positivas, enquanto, por outro lado, o inibidor de CTLA4 se envolve no próprio sistema imunológico do paciente para eliminar as células cancerosas. Próximo das células tumorais FTP(+), as células tumorais negativas alvos próximas das células tumorais FTP(+) serão potencialmente mortas pelo mecanismo de observação do dímero PBD liberado após a morte celular das células FTP(+). Assim, o ADC irá matar diretamente o tumor. A liberação resultante de antígenos associados a tumores de células mortas com o dímero de PBD acionará o sistema imunológico, que será ainda mais potencializado pelo uso de inibidores de CTLA4 expressos em uma grande proporção de linfócitos infiltrantes de tumores (TILs) de muitos tipos diferentes de tumores.

[0216] A principal função de CTLA4 (CD152) é regular a amplitude dos estágios iniciais da ativação das células T e, como tal, neutralizar a atividade do receptor co-estimulador de células T, CD28, no microambiente tumoral. O bloqueio da via de CTLA4 pode, portanto, melhorar o aumento da atividade das células T CD4+ efectoras, enquanto inibe a imunossupressão dependente de células TReg. Portanto, será benéfico direcionar um tumor FTP(+) com o ADC, causando a morte celular antigênica, enquanto o bloqueio de CTLA4 induz uma resposta imune e durável mais forte.

[0217] Antagonistas de CTLA4 específicos adequados para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem:

a) ipilimumab

i. Número CAS → 477202-00-9

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → 6T8C155666

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

b) Tremelimumab

i. Número CAS → 745013-59-6

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → QEN1X95CIX

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

iii. Sequência de VH

GVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNK  
YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPRGATLYYYYYGMDV  
 WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG  
 CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH [SEQ ID NO. 1]

iv. Sequência de VL

PSSLSASVGDRVTITCRASQSINSYLDWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP  
 SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPFTFGPGTKVEIKRTVAAPSVFI  
 FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV [SEQ ID NO. 2]

-----

[0218] Em algumas modalidades, o polipeptídeo de CTLA corresponde ao n°. de acesso ao Genbank AAL07473, versão n°. AAL07473.1, data da atualização do registro: 11 de março de 2010 01:28 h. Em uma modalidade, o ácido nucleico que

codifica o polipeptídeo de CTLA4 corresponde ao n°. de acesso ao Genbank. AF414120, versão n°. AF414120.1, data da atualização do registro: 11 de março de 2010 01:28 h. Em algumas modalidades, o polipeptídeo de OX40 corresponde ao número de acesso Uniprot/Swiss-Prot P16410.

#### Fludarabina e Citarabina

[0219] A combinação de agentes com diferentes mecanismos de ação é um princípio terapêutico estabelecido para combater o câncer. Pode ser uma maneira de aumentar a atividade antitumoral quando é mostrado um efeito sinérgico e/ou quando é observada toxicidade reduzida. Conjugados de anticorpo-fármaco, incluindo aqueles com uma ogiva de PBD, podem ser particularmente adequados como parceiros de combinação porque são mais direcionados em comparação à quimioterapia convencional. À medida que os dímeros de PBD reticulam o DNA de maneira covalente, é provável que combiná-los com outros agentes que interferem na síntese de DNA por meio de um mecanismo diferente traga um benefício. Exemplos de tais combinações potenciais são fludarabina e citarabina.

#### Fludarabina

[0220] A fludarabina ou fosfato de fludarabina (Fludara) é um medicamento quimioterápico usado no tratamento de neoplasias hematológicas, como leucemias e linfomas. É um análogo da purina, que interfere no DNA, interferindo na ribonucleotídeo redutase (RNAR) e na DNA polimerase. É ativo contra células em divisão e em repouso. Também demonstrou-se que a fludarabina suprime a transcrição do ERCC1 e isso pode explicar a sinergia observada entre a fludarabina e o dímero de PBD SJG136 (SG2000) contra células de leucemia linfocítica crônica. CLAG/CLAG-M - cladribina é outro análogo de purina que inibe o RNR.

[0221] A combinação de ADC, que tem como alvo linfomas e leucemias positivos para a primeira proteína alvo (FTP), com Fludarabina é vantajosa, porque, por um lado, o ADC mata diretamente as células tumorais FTP positivas através de

mecanismos que dependem da reticulação do DNA, resultando em apoptose, enquanto, por outro lado, a fludarabina inibirá as células de RNA e DNA polimerase, além de suprimir as enzimas de reparo de DNA necessárias para resolver as reticulações do DNA induzidas pelo dímero de PBD.

[0222] Para mostrar que o ADC trabalha sinergicamente com a fludarabina, um painel de linhagens celulares FTP(+) será co-tratado com uma faixa de concentração tanto de ADC quanto de fludarabina. Como controles negativos, o mesmo painel de linhagens celulares será co-tratado com uma faixa de concentrações de Fludarabina e uma ADC de controle não direcionada ou com uma faixa de concentração de ADC e do veículo. Após a incubação, dois parâmetros serão medidos: a quantidade de FTP de superfície (conforme determinado por citometria de fluxo) e a citotoxicidade *in vitro* das combinações (conforme determinado pelos ensaios CellTiter-Glo® ou MTS). A sinergia citotóxica é calculada transformando os dados de viabilidade celular em fração afetada e calculando o índice de combinação usando o programa de análise de CalcuSyn.

Número CAS → 21679-14-1

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Referência NCBI Pubchem → 657237

(ver <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

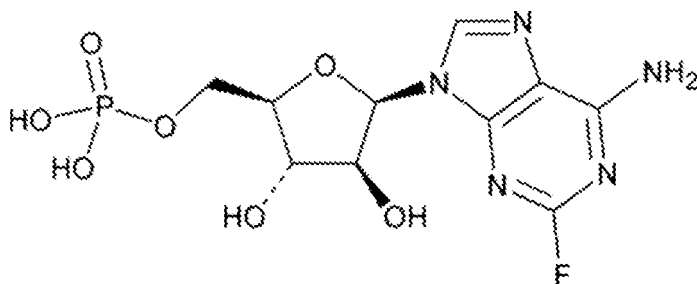
iii.Referência IUPHAR/BPS → 4802

(ver <http://www.guidetopharmacology.org/>)

iv.Identificador exclusivo de ingrediente (UNII) → 1X9VK9O1SC

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



Fórmula VII, Fludarabina: Ácido [(2R,3R,4S,5R)-5-(6-amino-2-fluoro-purin-9-il)-3,4-di-hidróxi-oxolan-2-il]metoxifosfônico

### Citarabina

[0223] A citarabina ou citosina arabinosídeo (Cytosar-U ou Depocyt) é um medicamento quimioterápico antimetabólico usado no tratamento de neoplasias hematológicas, como leucemia mieloide aguda (AML) e linfoma não-Hodgkin. Também é conhecida como ara-C (arabinofuranosil citidina). Ela mata células cancerosas interferindo na síntese de DNA. É metabolizada ativamente para trifosfato de citosina arabinosídeo, que danifica o DNA quando o ciclo celular se mantém na fase S (síntese de DNA). As células em rápida divisão, que requerem replicação de DNA para mitose, são, portanto, as mais afetadas. A citosina arabinosídeo também inibe as polimerases de DNA e RNA e as enzimas de nucleotídeo redutase necessárias para a síntese de DNA.

[0224] A combinação de ADC, que tem como alvo linfomas e leucemias positivos para Primeira Proteína Alvo (FTP), com Citarabina é vantajosa, porque, por um lado, o ADC mata diretamente as células tumorais FTP positivas através de mecanismos que dependem da reticulação do DNA, resultando em apoptose, enquanto, por outro lado, a citarabina inibirá as células de RNA e DNA polimerase, além de suprimir a síntese de DNA.

[0225] Para mostrar que o ADC trabalha sinergicamente com a citarabina, um painel de linhagens celulares FTP(+) será co-tratado com uma faixa de concentração de ADC e de citarabina. Como controles negativos, o mesmo painel de linhagens celulares será co-tratado com uma faixa de concentrações de Citarabine e um ADC

de controle não direcionado ou com uma faixa de concentração de ADC e de veículo. Após a incubação, dois parâmetros serão medidos: a quantidade de FTP de superfície (conforme determinado por citometria de fluxo) e a citotoxicidade *in vitro* das combinações (conforme determinado pelos ensaios CellTiter-Glo® ou MTS). A sinergia citotóxica é calculada transformando os dados de viabilidade celular em fração afetada e calculando o índice de combinação usando o programa de análise de CalcuSyn.

Número CAS → 147-94-4

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Referência NCBI Pubchem → 6253

(ver <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

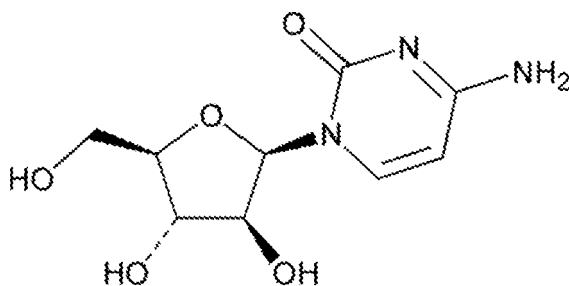
iii.Referência IUPHAR/BPS → 4827

(ver <http://www.guidetopharmacology.org/>)

iv.Identificador exclusivo de ingrediente (UNII) →04079A1RDZ

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



Fórmula VIII, Citarabina: 4-amino-1-[(2R,3S,4R,5R)-3,4-di-hidróxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il] pirimidin-2-ona

Agente de hipometilação

[0226] O termo “agente de hipometilação” refere-se a uma classe de



compostos que interferem na metilação de DNA, que é a adição de um grupo metila à posição 5 do anel citosina pirimidina ou ao nitrogênio na posição 6 do anel de adenina purina. A metilação do DNA altera de maneira estável o padrão de expressão gênica nas células, ou seja, diminui a expressão gênica (ou seja, para o receptor de vitamina D). Os agentes de hipometilação são compostos que podem inibir a metilação, resultando na expressão dos genes silenciados previamente hipermetilados. Análogos de citidina, como 5-azacitidina (azacitidina) e 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina), são os agentes de hipometilação mais comumente usados. Esses compostos funcionam ligando-se às enzimas que catalisam a reação de metilação, isto é, as metiltransferases de DNA.

[0227] Para examinar a extensão da hipometilação, amostras ou ensaios compreendendo um dado, por exemplo, proteína, gene, célula ou organismo, são tratadas com um potencial agente ativador ou inibidor e são comparadas com amostras de controle tratadas com uma molécula de controle inativa. As amostras de controle recebem um valor relativo de atividade de 100%. A inibição é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 90% ou menos, tipicamente 85% ou menos, mais tipicamente 80% ou menos, mais tipicamente 75% ou menos, geralmente 70% ou menos, mais geralmente 65% ou menos, geralmente 60% ou menos, tipicamente 55% ou menos, geralmente 50% ou menos, mais geralmente 45% ou menos, mais geralmente 40% ou menos, de preferência 35% ou menos, com mais preferência 30% ou menos, ainda com mais preferência 25% ou menos e, com mais preferência, menos de 20%. A ativação é alcançada quando o valor da atividade em relação ao controle é de cerca de 110%, geralmente pelo menos 120%, mais geralmente pelo menos 140%, mais geralmente pelo menos 160%, geralmente pelo menos 180%, mais frequentemente pelo menos duas vezes, na maioria das vezes pelo menos 2,5 vezes, geralmente pelo menos 5 vezes, mais geralmente pelo menos 10 vezes, de preferência pelo menos 20 vezes, com mais

preferência pelo menos 40 vezes e com mais preferência mais de 40 vezes mais.

[0228] A combinação de um ADC, que tem como alvo os linfomas e leucemias positivos para a primeira proteína alvo (FTP) com um agente de hipometilação é vantajosa, porque, por um lado, o ADC mata diretamente as células tumorais FTP positivas, enquanto, por outro lado, o agente de hipometilação irá interferir na metilação do DNA. Essa interferência é por causa da desmetilação nessa sequência, o que afeta adversamente a maneira como as proteínas reguladoras celulares são capazes de se ligar ao substrato de DNA/RNA. Essa atividade sinergiza-se com o ADC porque os dímeros de PBD reticulam o DNA de maneira covalente, de modo que combinando-os com outros agentes que interferem na síntese de DNA por meio de um mecanismo diferente fornece um benefício.

[0229] Os agentes de hipometilação específicos adequados para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem:

a) 5-azacitidina (azacitidina)

i. Número CAS → 320-67-2

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Referência NCBI Pubchem → 9444

(ver <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

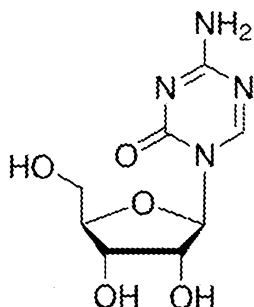
iii. Referência IUPHAR/BPS → 6796

(ver <http://www.guidetopharmacology.org/>)

iv. Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → M801H13NRU

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



Fórmula IX, 5-azacitidina: 4-Amino-1-β-D-ribofuranosil-1,3,5-triazin-2 (1H)-ona

b) 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina)

i. Número CAS → 2353-33-5

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Referência NCBI Pubchem → 451668

(ver <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

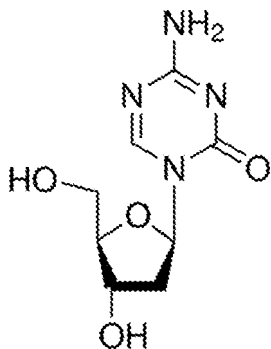
iii. Referência IUPHAR/BPS → 6805

(ver <http://www.guidetopharmacology.org/>)

iv. Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → 776B62CQ27

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



Fórmula X, b) 5-aza-2'-desoxicitidina: 4-Amino-1-(2-desóxi-β-D-eritropentofuranosil)-1,3,5-triazin-2 (1H)-ona

Agentes que suprarregulam a expressão de HER2

[0230] Um agente que “sobrerregula a expressão de HER2” significa qualquer composto químico ou molécula biológica que aumenta a quantidade de proteína HER2 na superfície da célula tumoral.

[0231] Para examinar a extensão de amostras ou ensaios de potencialização compreendendo um dado, por exemplo, proteína, gene, célula ou organismo, são tratadas com um potencial agente ativador e são comparadas com amostras de controle tratadas com uma molécula de controle inativa. As amostras de controle recebem um valor de expressão relativa de 100%. A ativação é alcançada quando o valor da expressão em relação ao controle é de cerca de 110%, geralmente pelo menos 120%, mais geralmente pelo menos 140%, mais geralmente pelo menos 160%, geralmente pelo menos 180%, mais frequentemente pelo menos 2 vezes, na maioria das vezes pelo menos 2,5 vezes, geralmente pelo menos 5 vezes, mais geralmente pelo menos 10 vezes, de preferência pelo menos 20 vezes, com mais preferência pelo menos 40 vezes e com mais preferência mais de 40 vezes mais.

[0232] Agentes específicos que regulam a expressão de HER2 adequados para uso como agentes secundários na presente divulgação incluem:

a) gencitabina

i. Número CAS → 95058-81-4

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Referência NCBI Pubchem → 60750

(ver <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

iii. Referência do DrugBank → DB00441

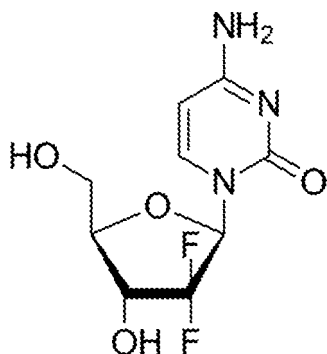
(ver <https://www.drugbank.ca/>)

iv. Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → B76N6SBZ8R

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem->

UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)



Fórmula IX, Gencitabina: 4-Amino-1-(2-desoxi-2,2-difluoro-β-D-eritro-pentofuranosil) pirimidin-2(1H)-on

b) tamoxifeno

i. Número CAS → 10540-29-1

(ver <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Referência NCBI Pubchem → 2733526

(ver <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

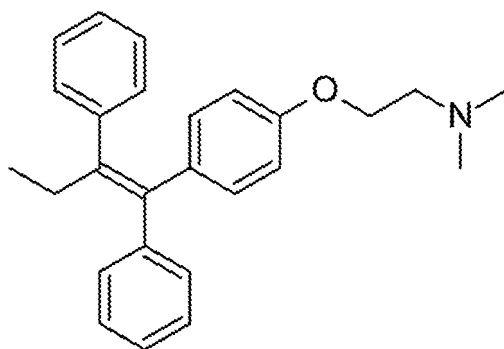
iii. Referência do DrugBank → DB00675

(ver <https://www.drugbank.ca/>)

iv. Identificador Exclusivo de Ingrediente (UNII) → 094ZI81Y45

(ver

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



Fórmula XII, Tamoxifeno: (Z)-2-[4-(1,2-difenilbut-1-enil)fenóxi]-N,N-

dimetiletanamina

#### Agentes anti-CD20

[0233] Em algumas modalidades, o agente anti-CD20 é administrado em combinação com o ADC como um agente secundário (isto é, agente anti-CD20 = agente secundário). Ou seja, está previsto que uma combinação de [agente ADC + anti-CD20] seja administrada ao indivíduo em combinação, por exemplo, [ADCx19 + Rituximab] ou [ADCx22 + Rituximab].

[0234] Em algumas modalidades, o agente anti-CD20 é administrado em combinação com o ADC como um agente terciário (ou seja, agente anti-CD20 = agente terciário), em uma combinação adicional com um agente secundário, conforme descrito aqui (como um inibidor de Tirosina Quinase de Bruton (BTKi), um antagonista de PD1, um antagonista de PD-L1, um agonista de GITR, um agonista de OX40, um antagonista de CTLA-4, fludarabina ou citarabina, um agente hipometilante ou um agente que regula positivamente a expressão de HER2). Ou seja, está previsto que uma combinação de [ADC + agente secundário + agente anti-CD20] seja administrada ao indivíduo em combinação; por exemplo, [ADCx19 + agente secundário + Rituximab] ou [ADCx22 + agente secundário + Rituximab].

[0235] Em algumas modalidades, o indivíduo é administrado com uma combinação de [ADC + Citarabina + agente anti-CD20], como [ADCx19 + Citarabina + Rituximab] ou [ADCx22 + Citarabina + Rituximab].

[0236] Em algumas modalidades, o indivíduo é administrado com uma combinação de [ADC + Fludarabina + agente anti-CD20], como [ADCx19 + Fludarabina + Rituximab] ou [ADCx22 + Fludarabina + Rituximab].

[0237] De preferência, nas modalidades em que a combinação administrada compreende um agente anti-CD20, o ADC é um anti-CD19 ADC, como o ADCx19.

[0238] O agente anti-CD20 pode ser um anticorpo anti-CD20 ou conjugado de anticorpo. Anticorpos anti-CD20 adequados ou conjugados de anticorpos incluem

rituximab, obinutuzumab, Ibritumomab tiuxetan, tositumomab, Ofatumumab, Ocaratuzumab, Ocrelizumab e Veltuzumab. De preferência, o agente anti-CD20 é o rituximab.

[0239] CD20 é uma fosfoproteína não glicosilada de 33-37 kDa, expressa na superfície da maioria das células B, normais e malignas. A biologia do CD20 ainda é relativamente pouco compreendida - ele não tem um ligante natural conhecido e os camundongos com nocaute de CD20 exibem um fenótipo quase normal, com apenas uma resposta imune independente de T levemente reduzida reportada. O CD20 é residente em domínios de raft lipídico da membrana plasmática, onde foi sugerido que funciona como um canal de cálcio operado em armazenamento após a ligação do receptor de células B para o antígeno (ver Boross et al., Am J Cancer Res. 2012; 2(6): 676–690).

[0240] "Agente anti-CD20" é usado aqui para significar qualquer agente que se liga especificamente a, e/ou inibe uma, atividade biológica de CD20. Uma classe preferida de agentes anti-CD20 são os anticorpos ou conjugados de anticorpos que se ligam especificamente ao CD20.

[0241] Como usado aqui, "liga-seespecificamente a CD20" é usado para significar que o anticorpo liga-se a CD20 com uma afinidade mais alta do que um parceiro não específico, como albumina de soro bovino (BSA, nº de acesso Genbank CAA76847, versão nº CAA76847.1 GI: 3336842, data de atualização do registro: 7 de Janeiro de 2011 14:30 h). Em algumas modalidades, o anticorpo liga-se a CD20 com uma constante de associação ( $K_a$ ) pelo menos 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000,  $10^4$ ,  $10^5$  ou  $10^6$ - vezes superior à constante de associação do anticorpo para BSA, quando medida em condições fisiológicas. Os anticorpos podem se ligar ao CD20 com uma alta afinidade. Por exemplo, em algumas modalidades, o anticorpo pode se ligar a CD20 com um  $K_D$  igual ou inferior a cerca de  $10^{-6}$  M, como  $1 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-13}$  ou  $10^{-14}$ .

[0242] Em algumas modalidades, o polipeptídeo CD20 corresponde ao nº de acessão Genbank CAA31046, versão nº. CAA31046.1, data da atualização do registro: 2 de fevereiro de 2011 10:09 h. Em uma modalidade, o ácido nucleico que codifica o polipeptídeo CD20 corresponde ao nº de acessão Genbank X12530, versão nº. X12530.1, data da atualização do registro: 2 de fevereiro de 2011 10:09 h. Em algumas modalidades, o polipeptídeo CD20 corresponde ao número de acesso Uniprot/Swiss-Prot Nº P11836.

[0243] Para mostrar que a combinação de anti-CD19 ADCs e agentes secundários funcionam sinergicamente com o agente anti-CD20, um painel de linhagens celulares de CD19(+) será co-tratado com uma faixa de concentrações de ambos dentre anti-CD19 ADC /agente secundário e o agente anti-CD20. Como controles negativos, o mesmo painel de linhagens celulares será tratado com uma faixa de concentrações do agente anti-CD20 ou com uma faixa de concentração de anti-CD19 ADC/agente secundário e veículo. Após a incubação, dois parâmetros serão medidos: a quantidade de CD19 de superfície (conforme determinado por citometria de fluxo) e a citotoxicidade *in vitro* das combinações (conforme determinado pelos ensaios de MTS). Para determinar a citotoxicidade, a viabilidade celular é medida adicionando MTS por poço e incubando por 4 horas a 37°C. A porcentagem de viabilidade celular é calculada em comparação com o controle não tratado. A sinergia citotóxica é calculada transformando os dados de viabilidade celular na fração afetada e calculando o índice de combinação usando o programa de análise CalcuSyn.

[0244] Os agentes anti-CD20 adequados para uso na presente divulgação incluem:

a)Rituximab

i.Número CAS → 174722-31-7

(Consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



ii.Referência do Drugbank → DB00073

(consulte <https://www.drugbank.ca/>)

iii.Identificador exclusivo de ingrediente (UNII) → 4F4X42SYQ6

(consulte

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

iv.Sequência de cadeia pesada:

QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIG  
AIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGD  
WYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV  
SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD  
KKAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE  
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS  
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW  
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY  
TQKSLSLSPGK

Sequência de cadeia leve:

QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFAQKPGSSPKPWYATS  
NLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKR  
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT  
EQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

b)obinutuzumab

i.Número CAS → 949142-50-1

(Consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Identificador exclusivo de ingrediente (UNII) → O43472U9X8

(consulte

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem->

UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)

c)Ibritumomab tiuxetan

i.Número CAS → 206181-63-7

(consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Referência do Drugbank → DB00078

(consulte <https://www.drugbank.ca/>)

iii.Identificador exclusivo de ingrediente (UNII) → 4Q52C550XK

(consulte

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

d)Tositumomab

i.Número CAS → 208921-02-2

(consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Referência do Drugbank → DB00081

(consulte <https://www.drugbank.ca/>)

iii.Identificador exclusivo de ingrediente (UNII) → 0343IGH41U

(consulte

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

e)Ofatumumab

i.Número CAS → 679818-59-8

(consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.Referência do Drugbank → DB06650

(consulte <https://www.drugbank.ca/>)

iii.Identificador exclusivo de ingrediente (UNII) → M95KG522R0

(consulte

[http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-](http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)

UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm)

f)Ocaratuzumab

i.Número CAS → 1169956-08-4

(consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

g)Ocrelizumab

i.Número CAS → 637334-45-3

(consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Identificador exclusivo de ingrediente (UNII) → A10SJL62JY

(consulte

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

h)Veltuzumab

i.Número CAS → 728917-18-8

(consulte <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. Identificador exclusivo de ingrediente (UNII) → BPD4DGQ314

(consulte

<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

-----

Propriedades vantajosas das combinações descritas

[0245] Tanto o ADC quanto o agente secundário, quando usados como um único agente isoladamente, demonstraram utilidade clínica - por exemplo, no tratamento de câncer. No entanto, conforme descrito neste documento, espera-se que a combinação do ADC e do agente secundário forneça uma ou mais das seguintes vantagens sobre o tratamento com o ADC ou o agente secundário isoladamente:

- 1) tratamento eficaz de uma gama mais ampla de cânceres;
- 2) tratamento eficaz de formas resistentes ou refratárias de distúrbios, como

câncer, e indivíduos com distúrbios, como câncer, que recidivaram após um período de remissão;

3) aumento da taxa de resposta ao tratamento; e/ ou

4) maior durabilidade do tratamento.

[0246] O tratamento eficaz de uma gama mais ampla de cânceres, como aqui utilizado, significa que após o tratamento com a combinação uma resposta completa é observada com uma gama maior de tipos de câncer reconhecidos. Ou seja, é observada uma resposta completa dos tipos de câncer que não foram relatados anteriormente para responder completamente ao ADC, ao agente secundário ou ao agente anti-CD20 isoladamente (ou em combinações de dois dos três elementos).

[0247] Por exemplo, foi demonstrado que a combinação de anti-CD19 ADC, ADCx19 e do agente anti-CD20, Rituximab, mostra citotoxicidade sinergisticamente potencializada (ver Exemplo 4 e Figura 2 aqui).

[0248] Também foi demonstrado que a combinação de anti-CD19 ADC, ADCx19 e citarabina mostra citotoxicidade sinergicamente potencializada (consulte o Exemplo 5 e Figura 3), assim como a combinação de anti-CD22 ADC, ADCx22 e citarabina (veja o Exemplo 6 e Figura 4A). A combinação de ADCx22 e Fludarabina também mostra citotoxicidade sinergicamente potencializada (ver Exemplo 6 e Figura 4B).

[0249] Consistente com os dados *in vitro* descritos acima, os dados *in vivo* de um estudo de xenoenxerto WSU-DLCL2 indicaram atividade antitumoral sinergicamente potencializada para a combinação de ADCx19/Citarabina e a combinação de ADCx19/Rituximab (ver Exemplo 7 e Figura 5).

[0250] O tratamento eficaz de formas resistentes, refratárias ou reincidentes, como usado aqui, significa que após o tratamento com a combinação, uma resposta completa é observada em indivíduos que são parcial ou completamente resistentes ou refratários ao tratamento com ADC, agente secundário ou agente anti-CD20

isoladamente (ou em combinação com dois dos três elementos, por exemplo, indivíduos que não apresentam resposta ou apenas resposta parcial após o tratamento com qualquer agente isoladamente (ou combinações de 2 dos 3 elementos), ou com os distúrbio reincidente). Em algumas modalidades, uma resposta completa após o tratamento com a combinação de ADC/agente secundário/agente anti-CD20 é observada em pelo menos 10% dos indivíduos que são parcial ou completamente resistentes ou refratários ao tratamento com ADC, agente secundário ou agente anti-CD20 isoladamente (ou em combinação de dois ou três elementos). Em algumas modalidades, uma resposta completa após o tratamento com a combinação de ADC/agente secundário/agente anti-CD20 é observada em pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80%, pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% dos indivíduos que são parcial ou completamente resistentes ou refratários ao tratamento com o ADC, o agente secundário, ou agente anti-CD20 isoladamente (ou em combinação de dois ou três elementos).

[0251] O aumento da taxa de resposta ao tratamento, como usado aqui, significa que após o tratamento com a combinação é observada uma resposta completa em uma proporção maior de indivíduos do que a observada após o tratamento com ADC, o agente secundário, ou agente anti-CD20 isoladamente (ou em combinação de dois ou três elementos). Em algumas modalidades, uma resposta completa após o tratamento com a combinação de ADC/agente secundário/agente anti-CD20 é observada em pelo menos 10% dos indivíduos tratados. Em algumas modalidades, uma resposta completa após o tratamento com a combinação de ADC/agente secundário/agente anti-CD20 é observada em pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80%, pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% dos indivíduos tratados.

[0252] O aumento da durabilidade do tratamento, como usado aqui, significa que a duração média da resposta completa em indivíduos tratados com a combinação tripla é maior do que em indivíduos que atingem resposta completa após o tratamento com ADC, o agente secundário, ou agente anti-CD20 isoladamente (ou em combinação de dois ou três elementos). Em algumas modalidades, a duração média de uma resposta completa após o tratamento com a combinação de ADC/agente secundário/agente anti-CD20 é de pelo menos 6 meses. Em algumas modalidades, a duração média de uma resposta completa após o tratamento com a combinação de ADC/agente secundário/agente anti-CD20 é de pelo menos 12 meses, pelo menos 18 meses, pelo menos 24 meses, pelo menos 3 anos, pelo menos 4 anos, pelo menos 5 anos, pelo menos 6 anos, pelo menos 7 anos, pelo menos 8 anos, pelo menos 9 anos, pelo menos 10 anos, pelo menos 15 anos ou pelo menos 20 anos.

[0253] 'Resposta completa' é usada aqui para significar a ausência de qualquer evidência clínica de doença em um indivíduo. As evidências podem ser avaliadas usando a metodologia apropriada na técnica, por exemplo, tomografia computadorizada ou varredura PET, ou biópsia, quando apropriado. O número de doses necessárias para obter resposta completa pode ser uma, duas, três, quatro, cinco, dez ou mais. Em algumas modalidades, os indivíduos alcançam resposta completa em não mais que um ano após a administração da primeira dose, como não mais que 6 meses, não mais que 3 meses, não mais que um mês, não mais que uma quinzena ou não mais que uma semana após a administração da primeira dose.

#### Distúrbios tratados

[0254] As terapias de combinação aqui descritas incluem aquelas com utilidade para a atividade anticâncer. Em particular, em certos aspectos, as terapias incluem um anticorpo conjugado, isto é, covalentemente ligado por um ligante, a uma porção de fármaco de PBD, isto é, toxina. Quando o fármaco não é conjugado com um anticorpo, o fármaco PBD tem um efeito citotóxico. A atividade biológica da fração

do fármaco de PBD é então modulada por conjugação a um anticorpo. Os conjugados anticorpo-fármaco (ADC) da invenção entregam seletivamente uma dose eficaz de um agente citotóxico ao tecido tumoral, pelo que pode ser conseguida maior seletividade, isto é, uma dose eficaz inferior.

[0255] Assim, em um aspecto, a presente divulgação fornece terapias de combinação compreendendo a administração de um ADC que se liga a uma primeira proteína alvo para uso em terapia, em que o método compreende selecionar um sujeito com base na expressão da proteína alvo.

[0256] Em um aspecto, a presente divulgação fornece uma terapia combinada com um rótulo que especifica que a terapia é adequada para uso com um sujeito determinado como adequado para esse uso. O rótulo pode especificar que a terapia é adequada para uso em um sujeito que tenha expressão da primeira proteína alvo, tal como superexpressão da primeira proteína alvo. O rótulo pode especificar que o sujeito tem um tipo específico de câncer.

[0257] A primeira proteína alvo é de preferência CD19 ou CD22. O câncer pode ser linfoma, como linfoma não-Hodgkins. A etiqueta pode especificar que o indivíduo tem um linfoma CD19+ ou CD22+.

[0258] Em um aspecto adicional, também é fornecida uma terapia combinada, como descrito aqui, para uso no tratamento de uma doença proliferativa. Outro aspecto da presente divulgação fornece o uso de um composto conjugado na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma doença proliferativa.

[0259] Um versado na técnica é prontamente capaz de determinar se uma terapia combinada candidata trata ou não uma condição proliferativa para qualquer tipo particular de célula. Por exemplo, os ensaios que podem ser convenientemente utilizados para avaliar a atividade oferecida por um composto particular são descritos a seguir.

[0260] As terapias combinadas aqui descritas podem ser usadas para tratar

uma doença proliferativa. O termo “doença proliferativa” se refere a uma proliferação celular indesejada ou descontrolada de células excessivas ou anormais que é indesejada, tal como crescimento neoplástico ou hiperplástico, quer *in vitro* ou *in vivo*.

[0261] Exemplos de condições proliferativas incluem, mas não se limitam a, proliferação celular benigna, pré-maligna e maligna, incluindo mas não limitadas a, neoplasmas e tumores (por exemplo, histocitoma, glioma, astrocoma, osteoma), cânceres (por exemplo, câncer do pulmão, câncer das células pequenas do pulmão, câncer gastrointestinal, câncer do intestino, câncer do cólon, carcinoma da mama, carcinoma do ovário, câncer da próstata, câncer testicular, câncer do fígado, câncer do rim, câncer da bexiga, câncer do pâncreas, câncer do cérebro, sarcoma, osteossarcoma, sarcoma de Kaposi, melanoma), linfomas, leucemias, psoríase, doenças ósseas, distúrbios fibroproliferativos (por exemplo, tecidos conjuntivos) e aterosclerose. Cânceres de interesse incluem, mas não estão limitados a, leucemias e cânceres do ovário.

[0262] Qualquer tipo de célula pode ser tratada, incluindo, mas não limitado a, pulmão, gastrointestinal (incluindo, por exemplo, intestino, cólon), mama (mamária), ovário, próstata, fígado (hepático), rim (renal), bexiga, pâncreas, cérebro e pele.

[0263] Os distúrbios proliferativos de interesse particular incluem, entre outros, Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph + ALL) ou ALL negativa para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL). [Fielding A., Haematologica. Jan de 2010; 95(1): 8–12].

[0264] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD19+ve e CD19-ve. A doença proliferativa pode



ser caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD22+ve e C22-ve.

[0265] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD19-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD19-ve estão associadas a células neoplásicas e não neoplásicas CD19+ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD22-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD22-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD22+ve.

[0266] O câncer alvo ou células de câncer podem ser todo ou parte de um tumor sólido.

[0267] "Tumor sólido" neste documento será entendido como incluindo cânceres hematológicos sólidos, como linfomas (linfoma de Hodgkin ou linfoma não-Hodgkin), os quais são discutidos em mais detalhes aqui.

[0268] Por exemplo, o tumor sólido pode ser um tumor com altos níveis de células T infiltrantes, como células T reguladoras infiltrantes (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7: 15–28 ; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res Jan. 2017; 27 (1): 109-118). Assim, o tumor sólido pode ser câncer pancreático, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça e pescoço.

[0269] Considera-se que as terapias combinadas da presente divulgação podem ser utilizados para tratar diversas doenças ou distúrbios, por exemplo, caracterizadas pela sobreexpressão de um antígeno tumoral. Condições ou distúrbios hiperproliferativos exemplares incluem tumores benignos ou malignos; leucemia, neoplasias hematológicas e linfoides. Outros incluem desordens neuronais, gliais,

astrocitraes, hipotalâmicas, glandulares, macrófagas, epiteliaes, estromais, blastocélicas, inflamatórias, angiogênicas e imunológicas, incluindo autoimunes e doença do enxerto versus hospedeio (GVHD).

[0270] Geralmente, a doença ou distúrbio a ser tratada é uma doença hiperproliferativa, tal como câncer. Os exemplos de câncer a serem tratados incluem, mas não estão limitados a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma e leucemia ou malignidades linfoides. Exemplos mais específicos de tais cânceres incluem o câncer de células escamosas (por exemplo, câncer de células epiteliaes escamosas), câncer de pulmão incluindo câncer de pequenas células do pulmão, câncer de pulmão de células não-pequenas, adenocarcinoma de pulmão e carcinoma escamoso de pulmão, câncer de peritônio, câncer hepatocelular, câncer gástrico ou de estômago incluindo câncer gastrointestinal, câncer pancreático, glioblastoma, câncer cervical, câncer ovariano, câncer de fígado, câncer da bexiga, hepatoma, câncer de mama, câncer de cólon, câncer do reto, câncer colorretal, carcinoma endometrial ou uterino, carcinoma de glândulas salivares, câncer de rins ou renal, câncer de próstata, câncer vulvar, câncer de tireoide, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma de pênis, assim como câncer de cabeça e pescoço.

[0271] As doenças autoimunes para as quais as terapias de combinação podem ser utilizados no tratamento incluem desordens reumatológicas (como, por exemplo, artrite reumatoide, síndrome de Sjögren, esclerodermia, lúpus, como SLE e nefrite lúpica, polimiosite/dermatomiosite, crioglobulinemia, síndrome do anticorpo anti-fosfolípido, e artrite psoriática), osteoartrite, desordens gastrointestinaes e hepáticos autoimunes (como, por exemplo, doenças inflamatórias intestinaes (por exemplo, colite ulcerativa e doença de Crohn), gastrite autoimune e anemia perniciosa, hepatite autoimune, cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária, e doença celíaca), vasculite (como, por exemplo, vasculite associado a ANCA, incluindo vasculite de Churg-Strauss, granulomatose de Wegener e poliarterite),

desordens neurológicas autoimunes (como, por exemplo, esclerose múltipla, síndrome de opsoclonia-mioclona, miastenia grave, neuromielite ótica, doença de Parkinson, doença de Alzheimer, e polineuropatias autoimunes), desordens renais (como, por exemplo, glomerulonefrite, síndrome de Goodpasture e doença de Berger), desordens dermatológicas autoimunes (como, por exemplo, psoríase, urticária, erupção da pele, pênfigo vulgar, penfigoide bolhosa e lúpus eritematoso cutâneo), doenças hematológicas (como, por exemplo, púrpura trombocitopênica, púrpura trombocitopênica trombótica, púrpura pós-transfusão, e anemia hemolítica autoimune), aterosclerose, uveíte, doenças de audição autoimune (como, por exemplo, doença do ouvido interno e perda auditiva), doença de Behcet, síndrome de Raynaud, transplante de órgãos, doença do enxerto versus hospedeiro (GVHD) e doenças endócrinas autoimunes (como, por exemplo, doenças autoimunes relacionadas com diabetes como diabetes mellitus dependente de insulina (IDDM), doença de Addison e doença autoimunes da tireoide (por exemplo, doença de Graves e tireoidite)). Essas doenças mais preferidas incluem, por exemplo, artrite reumatoide, colite ulcerativa, vasculite associada a ANCA, lúpus, esclerose múltipla, síndrome de Sjogren, doença de Graves, IDDM, anemia perniciosa, tireoidite e glomerulonefrite.

[0272] Em alguns aspectos, o sujeito tem um distúrbio proliferativo selecionado de Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph + ALL) ou ALL negativa para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL). [Fielding A., Haematologica. 2010 Jan; 95(1): 8–12].

[0273] Em certos aspectos, o indivíduo tem linfoma de células B difusa grandes.

[0274] Em alguns aspectos, o sujeito tem uma doença proliferativa caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD19+ve e CD19-ve. Em alguns aspectos, o sujeito tem uma doença proliferativa caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD22+ve e C22-ve.

[0275] A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD19-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD19-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD19+ve. A doença proliferativa pode ser caracterizada pela presença de uma neoplasia composta por células neoplásicas CD22-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD22-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD22 + ve.

[0276] O neoplasma alvo ou células neoplásicas podem ser todo ou parte de um tumor sólido. Em alguns aspectos, o sujeito tem um tumor sólido.

[0277] "Tumor sólido" neste documento será entendido como incluindo cânceres hematológicos sólidos, como linfomas (linfoma de Hodgkin ou linfoma não-Hodgkin), os quais são discutidos em mais detalhes aqui.

[0278] Por exemplo, o tumor sólido pode ser um tumor com altos níveis de células T infiltrantes, como células T reguladoras infiltrantes (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 27 de Jan de 2017; 27(1):109-118). Portanto, o tumor sólido pode ser câncer pancreático, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça e pescoço.

#### Seleção de Pacientes

[0279] Em certos aspectos, os indivíduos são selecionados como adequados para o tratamento com os tratamentos combinados antes dos tratamentos serem

administrados.

[0280] Como usado aqui, os indivíduos considerados adequados para o tratamento são aqueles que se espera que se beneficiem ou respondam ao tratamento. Os indivíduos podem ter, ou ser suspeitos de terem, ou estar em risco de terem câncer. Os indivíduos podem ter recebido um diagnóstico de câncer. Em particular, os indivíduos podem ter, ou ser suspeitos de terem, ou estar em risco de terem, linfoma. Em alguns casos, os indivíduos podem ter, ou ser suspeitos de terem, ou estar em risco de terem, um câncer sólido que possui células não tumorais associadas ao tumor que expressam uma primeira proteína alvo, como células infiltrantes que expressam a primeira proteína alvo.

[0281] Em alguns aspectos, os indivíduos são selecionados com base na quantidade ou padrão de expressão de uma primeira proteína alvo. Em alguns aspectos, a seleção é baseada na expressão de uma primeira proteína alvo na superfície celular.

[0282] Em alguns aspectos, os indivíduos são selecionados com base em um neoplasma que compreende células CD19+ve e CD19-ve. O neoplasma pode ser composto por células neoplásicas CD19-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD19-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD19+ve. O neoplasma ou células neoplásicas pode ser todo ou parte de um tumor sólido. O tumor sólido pode ser parcial ou totalmente CD19-ve. Em alguns aspectos, os indivíduos são selecionados com base em um neoplasma que compreende células CD22+ve e CD22-ve. O neoplasma pode ser composto por células neoplásicas CD22-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD22-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD22+ve. O neoplasma ou células neoplásicas pode ser todo ou parte de um tumor sólido. O tumor sólido pode ser parcial ou totalmente CD22-ve.

[0283] Em certos aspectos, o alvo é uma segunda proteína alvo. Em alguns

aspectos, a seleção é baseada na expressão de uma segunda proteína alvo na superfície celular.

[0284] Em alguns aspectos, a seleção é baseada nos níveis de uma primeira proteína alvo e de uma segunda proteína alvo na superfície celular.

[0285] Em alguns casos, a expressão do alvo em um determinado tecido de interesse é determinada. Por exemplo, em uma amostra de tecido linfóide ou tecido tumoral. Em alguns casos, a expressão sistêmica do alvo é determinada. Por exemplo, em uma amostra de fluido circulante, como sangue, plasma, soro ou linfa.

[0286] Em alguns aspectos, o indivíduo é selecionado como adequado para tratamento devido à presença de expressão alvo em uma amostra. Nesses casos, os indivíduos sem expressão alvo podem ser considerados não adequados para o tratamento.

[0287] Em outros aspectos, o nível de expressão alvo é usado para selecionar um indivíduo como adequado para o tratamento. Quando o nível de expressão do alvo está acima de um nível limite, o indivíduo é determinado como adequado para o tratamento.

[0288] Em alguns aspectos, a presença de uma primeira proteína alvo e/ou uma segunda proteína alvo nas células da amostra indica que o indivíduo é adequado para o tratamento com uma combinação compreendendo um ADC e um agente secundário. Em outros aspectos, a quantidade da primeira proteína alvo e/ou uma segunda expressão da proteína alvo deve estar acima de um nível limite para indicar que o indivíduo é adequado para o tratamento. Em alguns aspectos, a observação de que a primeira proteína alvo e/ou uma segunda localização da proteína alvo é alterada na amostra em comparação com um controle indica que o indivíduo é adequado para o tratamento.

[0289] Em alguns aspectos, um indivíduo é indicado como adequado para o tratamento se as células obtidas a partir de linfonodos ou locais nodais extras reagirem

com anticorpos contra a primeira proteína alvo e/ou uma segunda proteína alvo, conforme determinado por IHC.

[0290] Em alguns aspectos, um paciente é considerado adequado para tratamento se pelo menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60 %, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% ou mais de todas as células da amostra expressam uma primeira proteína alvo. Em alguns aspectos aqui divulgados, um paciente é determinado como adequado para tratamento se pelo menos 10% das células da amostra expressarem uma primeira proteína alvo.

[0291] Em alguns aspectos, o indivíduo é selecionado como adequado para o tratamento com base em seu regime de tratamento atual ou anterior. Em algumas modalidades, o indivíduo é selecionado para tratamento com a combinação de ADC e/ou agente secundário, se o indivíduo tiver sido tratado com um agente anti-CD20. Em algumas modalidades, o indivíduo é selecionado para tratamento com a combinação de ADC e/ou agente secundário, se o indivíduo estiver sendo tratado com um agente anti-CD20. Em alguns casos, o indivíduo é selecionado para tratamento se for refratário ao tratamento (ou tratamento adicional) com o agente anti-CD20. Em alguns casos, o agente anti-CD20 pode ser o rituximab. Nas modalidades em que o indivíduo está sendo submetido ou foi submetido a tratamento com um agente anti-CD20, a combinação de ADC e/ou agente secundário pode ser administrada em combinação com um agente anti-CD20 ou sem administração continuada do agente anti-CD20. O ADC pode ser um ADC anti-CD19, como ADCx19. O ADC pode ser um ADC anti-CD22, como ADCx22.

[0292] Em algumas modalidades, a combinação de ADC e/ou agente secundário é administrada ao indivíduo selecionado em combinação com um agente anti-CD20. Em algumas modalidades, a combinação de ADC e/ou agente secundário é administrada ao indivíduo selecionado sem administração continuada de um agente anti-CD20. O agente anti-CD20 é de preferência Rituximab. O ADC pode ser um ADC

anti-CD19, como ADCx19. O ADC pode ser um ADC anti-CD22, como ADCx22.

[0293] O termo 'refratário ao tratamento (ou tratamento adicional) com o agente anti-CD20 é usado aqui para significar que o distúrbio (como o câncer) não responde, ou deixou de responder, à administração do agente anti-CD20 quando administrado em monoterapia. Em algumas modalidades, os indivíduos com NHL refratário são identificados usando os critérios de resposta divulgados em Cheson et al., 2014 (South Asian J Cancer. Jan-Mar de 2014; 3(1): 66-70). Nesse documento, os que não respondem são definidos como indivíduos em que (i) um aumento de > 50% do nadir na soma dos diâmetros de qualquer nó anormal identificado anteriormente ou (ii) um aparecimento de nova lesão durante ou no final da terapia. Em algumas modalidades, os indivíduos com leucemia refratária são identificados como indivíduos com doença estável ou progressiva que completaram um ciclo de tratamento completo ou que atingiram resposta parcial após dois ou mais ciclos de tratamento completos.

[0294] A primeira proteína alvo é, de preferência, CD19 ou CD22.

#### Amostras

[0295] A amostra pode compreender ou pode ser derivada de: uma quantidade de sangue; uma quantidade de soro derivado do sangue do indivíduo que pode compreender a porção fluida do sangue obtida após a remoção do coágulo de fibrina e das células sanguíneas; uma quantidade de suco pancreático; uma amostra de tecido ou biópsia; ou células isoladas do referido indivíduo.

[0296] Uma amostra pode ser retirada de qualquer tecido ou fluido corporal. Em certos aspectos, a amostra pode incluir ou pode ser derivada de uma amostra de tecido, biópsia, ressecção ou células isoladas do referido indivíduo.

[0297] Em certos aspectos, a amostra é uma amostra de tecido. A amostra pode ser uma amostra de tecido tumoral, como tecido tumoral canceroso. A amostra pode ter sido obtida por uma biópsia de tumor. Em alguns aspectos, a amostra é uma amostra de tecido linfóide, como uma amostra de lesão linfóide ou biópsia de



linfonodo. Em alguns casos, a amostra é uma biópsia de pele.

[0298] Em alguns aspectos, a amostra é retirada de um fluido corporal, com mais preferência um que circula pelo corpo. Portanto, a amostra pode ser uma amostra de sangue ou de linfa. Em alguns casos, a amostra é uma amostra de urina ou de saliva.

[0299] Em alguns casos, a amostra é uma amostra de sangue ou uma amostra derivada de sangue. A amostra derivada do sangue pode ser uma porção selecionada do sangue de um indivíduo, por exemplo, uma fração contendo células selecionadas ou uma fração plasmática ou sérica.

[0300] Uma fração contendo células selecionada pode conter tipos de células de interesse que podem incluir glóbulos brancos (WBC), particularmente células mononucleares do sangue periférico (PBC) e/ou granulócitos e/ou glóbulos vermelhos (RBC). Portanto, os métodos de acordo com a presente divulgação podem envolver a detecção de um primeiro polipeptídeo ou ácido nucleico alvo no sangue, em glóbulos brancos, células mononucleares do sangue periférico, granulócitos e/ou glóbulos vermelhos.

[0301] A amostra pode ser nova ou arquivada. Por exemplo, o tecido de arquivo pode ser do primeiro diagnóstico de um indivíduo ou de uma biópsia em uma reincidência. Em certos aspectos, a amostra é uma biópsia nova.

[0302] O primeiro polipeptídeo alvo é de preferência CD19 ou CD22.

#### Estado do indivíduo

[0303] O indivíduo pode ser um animal, mamífero, um mamífero placentário, um marsupial (por exemplo, canguru, vombate), um monotreme (por exemplo, ornitorrinco com bico de pato), um roedor (por exemplo, um porquinho da índia, um hamster, um rato, um camundongo), murino (por exemplo, um camundongo), um lagomorfo (por exemplo, um coelho), aves (por exemplo, um pássaro), canino (por exemplo, um cachorro), felino (por exemplo, um gato), equino (por exemplo, um

cavalo), suíno (por exemplo, um porco), ovino (por exemplo, uma ovelha), bovino (por exemplo, uma vaca), um primata, símio (por exemplo, um macaco ou macaco de grande porte), um macaco (por exemplo, sagui, babuíno), um macaco de grande porte (por exemplo, gorila, chimpanzé, orangotango, gibão) ou um ser humano.

[0304] Além disso, o indivíduo pode estar em qualquer uma de suas formas de desenvolvimento, por exemplo, um feto. Em uma modalidade preferida, o indivíduo é um humano. Os termos "sujeito", "paciente" e "indivíduo" são usados aqui de forma intercambiável.

[0305] Em alguns aspectos divulgados neste documento, um indivíduo tem ou é suspeito de ter ou foi identificado como estando em risco de ter câncer. Em alguns aspectos divulgados neste documento, o indivíduo já recebeu um diagnóstico de câncer. O indivíduo pode ter recebido um diagnóstico de Linfoma de Hodgkin interestnnon, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph + ALL) ou ALL negativa para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL). [Fielding A., Haematologica. 2010 Jan; 95(1): 8–12].

[0306] Em alguns casos, o indivíduo tem, é suspeito de ter ou recebeu um diagnóstico de uma doença proliferativa caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD19+ve e CD19-ve. O neoplasma pode ser composto por células neoplásicas CD19-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD19-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD19+ve. O neoplasma ou células neoplásicas pode ser todo ou parte de um tumor sólido. O tumor sólido pode ser um neoplasma, incluindo um câncer não hematológico, compreendendo ou composto de células neoplásicas CD19+ve. Em alguns casos, o

indivíduo tem, é suspeito de ter ou recebeu um diagnóstico de uma doença proliferativa caracterizada pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD22+ve e CD22-ve. O neoplasma pode ser composto por células neoplásicas CD22-ve, opcionalmente em que as células neoplásicas CD22-ve estão associadas a células neoplásicas ou não neoplásicas CD22+ve. O neoplasma ou células neoplásicas pode ser todo ou parte de um tumor sólido. O tumor sólido pode ser um neoplasma, incluindo um câncer não hematológico, compreendendo ou composto de células neoplásicas CD22+ve.

[0307] Em alguns casos, o indivíduo tem, é suspeito de ter ou recebeu um diagnóstico de um tumor sólido.

[0308] "Tumor sólido" neste documento deve ser entendido como incluindo cânceres hematológicos sólidos, como linfomas (linfoma de Hodgkin ou linfoma não Hodgkin), os quais são discutidos em mais detalhes aqui.

[0309] Por exemplo, o tumor sólido pode ser um tumor com altos níveis de células T infiltrantes, como células T reguladoras infiltrantes (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 27 de Jan de 2017; 27(1):109-118). Portanto, o tumor sólido pode ser câncer pancreático, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça e pescoço.

[0310] Em alguns casos, o indivíduo recebeu o diagnóstico de um câncer sólido contendo células infiltrantes que expressam CD19+ ou CD22+.

[0311] O Indivíduo pode estar sendo submetido ou foi submetido a um tratamento terapêutico para esse câncer. O sujeito pode, ou não, ter recebido anteriormente ADCX19 ou ADCX22. Em alguns casos, o câncer é linfoma, incluindo linfoma não Hodgkins.

[0312] O indivíduo pode estar em tratamento ou ter sido submetido a um tratamento com um agente anti-CD20. Em alguns casos, o indivíduo pode ser refratário ao tratamento (ou tratamento adicional) com o agente anti-CD20. Em alguns casos, o agente anti-CD20 pode ser o rituximab. Nas modalidades em que o indivíduo está sendo submetido ou foi submetido a tratamento com um agente anti-CD20, a combinação de anti-CD19 ADC/agente secundário pode ser administrada em combinação com um agente anti-CD20 ou sem administração continuada do agente anti-CD20.

### Controles

[0313] Em alguns aspectos, a expressão alvo no indivíduo é comparada à expressão alvo em um controle. Os controles são úteis para apoiar a validade da coloração e identificar artefatos experimentais.

[0314] Em alguns casos, o controle pode ser uma amostra de referência ou conjunto de dados de referência. A referência pode ser uma amostra que foi previamente obtida de um indivíduo com um grau conhecido de adequação. A referência pode ser um conjunto de dados obtido da análise de uma amostra de referência.

[0315] Os controles podem ser controles positivos nos quais se sabe que a molécula alvo está presente, ou são expressos em alto nível, ou controles negativos nos quais a molécula alvo é conhecida por estar ausente ou expressa em um nível baixo.

[0316] Os controles podem ser amostras de tecido provenientes de indivíduos que se beneficiam do tratamento. O tecido pode ser do mesmo tipo que a amostra que está sendo testada. Por exemplo, uma amostra de tecido tumoral de um indivíduo pode ser comparada a uma amostra controle de tecido tumoral de um indivíduo conhecido por ser adequado para o tratamento, tal como um indivíduo que respondeu anteriormente ao tratamento.

[0317] Em alguns casos, o controle pode ser uma amostra obtida do mesmo indivíduo que a amostra de teste, mas de um tecido conhecido por ser saudável. Assim, uma amostra de tecido canceroso de um indivíduo pode ser comparada a uma amostra de tecido não canceroso.

[0318] Em alguns casos, o controle é uma amostra de cultura de células.

[0319] Em alguns casos, uma amostra de teste é analisada antes da incubação com um anticorpo para determinar o nível de coloração de fundo inerente a essa amostra.

[0320] Em alguns casos, um controle de isotipo é usado. Os controles de isotipo usam um anticorpo da mesma classe que o anticorpo específico do alvo, mas não são imunorreativos à amostra. Tais controles são úteis para distinguir interações não específicas do anticorpo específico do alvo.

[0321] Os métodos podem incluir interpretação hematopatologista da morfologia e imuno-histoquímica, para garantir uma interpretação precisa dos resultados dos testes. O método pode envolver a confirmação de que o padrão de expressão se correlaciona com o padrão esperado. Por exemplo, quando a quantidade de uma primeira proteína alvo e/ou uma segunda expressão de proteína alvo é analisada, o método pode envolver a confirmação de que na amostra de teste a expressão é observada como coloração de membrana, com um componente citoplasmático. O método pode envolver a confirmação de que a razão entre o sinal alvo e o ruído está acima de um nível limite, permitindo assim uma discriminação clara entre sinais de fundo específicos e não específicos.

[0322] A primeira proteína alvo é de preferência CD19 ou CD22.

#### Métodos de tratamento

[0323] O termo "tratamento", como usado aqui no contexto de tratamento de uma condição, refere-se geralmente ao tratamento e terapia, seja de um ser humano ou de um animal (por exemplo, em aplicações veterinárias), no qual é alcançado

algum efeito terapêutico desejado, por exemplo, a inibição do progresso da condição e inclui uma redução na taxa de progresso, uma interrupção na taxa de progresso, regressão da condição, melhoria da condição e cura da condição. O tratamento como medida profilática (isto é, profilaxia, prevenção) também está incluído.

[0324] O termo "quantidade terapeuticamente eficaz" ou "quantidade eficaz", como usado aqui, refere-se à quantidade de um composto ativo, ou um material, composição ou dosagem que compreende um composto ativo, que é eficaz para produzir algum efeito terapêutico desejado, proporcional com uma razão de risco/benefício razoável, quando administrado de acordo com um regime de tratamento desejado.

[0325] Da mesma forma, o termo "quantidade profilaticamente eficaz", como usado aqui, refere-se à quantidade de um composto ativo, ou um material, composição ou dosagem que compreende um composto ativo, que é eficaz para produzir algum efeito profilático desejado, proporcional a um razão de risco/benefício razoável, quando administrada de acordo com um regime de tratamento desejado.

[0326] São divulgados aqui métodos de terapia. Também é fornecido um método de tratamento, compreendendo a administração a um sujeito necessitado de tratamento de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um ADC e de um agente secundário. O termo "quantidade terapeuticamente eficaz" é uma quantidade suficiente para mostrar benefício para um sujeito. Esse benefício pode ser pelo menos a melhoria de pelo menos um sintoma. A quantidade real administrada, a taxa e o tempo de administração dependerão da natureza e da gravidade do tratamento. A prescrição do tratamento, por exemplo, decisões de dosagem, é de responsabilidade dos médicos generalistas e de outros médicos. O sujeito pode ter sido testado para determinar sua elegibilidade para receber o tratamento de acordo com os métodos aqui divulgados. O método de tratamento pode compreender uma etapa para determinar se um sujeito é elegível para tratamento, usando um método divulgado

neste documento.

[0327] O ADC pode compreender um anticorpo anti-CD19 ou um anticorpo anti-CD22. O anticorpo anti-CD19 pode ser anticorpo RB4v1.2. O anticorpo anti-CD22 pode ser EMabC220. O ADC pode compreender um fármaco que é um dímero de PBD. O ADC pode ser um anti-CD19-ADC e, em particular, ADCX19. O ADC pode ser um anti-CD22-ADC e, em particular, ADCX22. O ADC pode ser um ADC divulgado em WO2014/057117 ou WO2014/057122.

[0328] O agente secundário pode ser:

(a)um inibidor de tirosina cinase de Bruton (BTKi), como Ibrutinib (Imbruvica), Acalabrutinib/ACP-196, ONO/GS-4059, Spebrutinib/AVL-292/CC-292, HM71224 (Poseltinib) ou BGB-3111 (Zanubrutinib);

(b)um antagonista de PD1, como pembrolizumab, nivolumab, MEDI0680, PDR001 (spartalizumab), Camrelizumab, AUNP12, Pidilizumab, Cemiplimab (REGN-2810), AMP-224, BGB-A317 (Tisleizumab), ou BGB-108;

(c)um antagonista de PD-L1, como atezolizumab (Tecentriq), BMS-936559/MDX-1105, durvalumab/MEDI4736, ou MSB0010718C (Avelumab);

(d)um agonista de G<sub>ITR</sub> (Glucocorticoid-Induced INFR-Related protein-Proteína Relacionada a TNFR Induzida por Glucocorticoide), como MEDI1873, TRX518, GWN323, MK-1248, MK-4166, BMS-986156 ou INCAGN1876;

(e)um agonista de OX40, como MEDI0562, MEDI6383, MOXR0916, RG7888, OX40mAb24, INCAGN1949, GSK3174998 ou PF-04518600;

(f)um antagonista de CTLA-4, como ipilimumab (marca Yervoy) ou Tremelimumab (originalmente desenvolvido pela Pfizer, agora Medimmune);

(g)Fludarabina ou Citarabina;

(h)um agente de hipometilação, tal como análogos da citidina-por exemplo, 5-azacitidina (azacitidina) e 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina); ou

(i)um agente que sobrerregula a expressão de HER2, como gencitabina e

tamoxifeno; ou

(j)um agente anti-CD20, como rituximab, obinutuzumab, Ibritumomab tiuxetan, tositumomab, Ofatumumab, Ocaratuzumab, Ocrelizumab e Veltuzumab.

[0329] O tratamento pode envolver administração da combinação ADC/agente secundário sozinha ou em combinação adicional com outros tratamentos, seja simultaneamente ou sequencialmente dependendo da condição a ser tratada.

[0330] Um método de tratamento de exemplo envolve:

(1) identificar que um indivíduo foi tratado com, ou está sendo tratado com um agente anti-CD20, como o rituximab;

(2) administrar ao indivíduo um ADC anti-CD19, como o ADCx19, opcionalmente em combinação com um agente secundário; e, opcionalmente

(3) administrar ao indivíduo um agente anti-CD20, como o Rituximab, em combinação com o anti-CD19 ADC e/ou agente secundário (por exemplo, ao mesmo tempo que o ADC ou após o ADC).

[0331] Exemplos de tratamentos e terapias incluem, mas não estão limitados a, quimioterapia (a administração de agentes ativos, incluindo, por exemplo, fármacos, tais como quimioterápicos); cirurgia; e radioterapia.

[0332] Um “agente quimioterápico” é um composto químico útil no tratamento do câncer, independentemente do mecanismo de ação. As classes de agentes quimioterápicos incluem, mas não se limitam a: agentes alquilantes, antimetabólitos, alcaloides de plantas de veneno de fusos, antibióticos citotóxicos/antitumorais, inibidores de topoisomerase, anticorpos, fotossensibilizadores e inibidores de quinases. Os agentes quimioterápicos incluem compostos usados em “terapia direcionada” e quimioterapia convencional.

[0333] Exemplos de agentes quimioterapêuticos incluem: Lenalidomide (REVLIMID®, Celgene), Vorinostat (ZOLINZA®, Merck), Panobinostat (FARYDAK®, Novartis), Mocetinostat (MGCD0103), Everolimus (ZORTRESS®, CERTICAN®,



Novartis), Bendamustine (TREAKISYM®, RIBOMUSTIN®, LEVACT®, TREANDA®, Mundipharma International), erlotinib (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), docetaxel (TAXOTERE®, Sanofi-Aventis), 5-FU (fluorouracil, 5-fluorouracil, nº CAS 51-21-8), gencitabina (GEMZAR®, Lilly), PD-0325901 (nº CAS 391210-10-9, Pfizer), cisplatina (cis-diamine, dichloroplatinum(II), nº CAS 15663-27-1), carboplatina (nº CAS 41575-94-4), paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), temozolomida (4-metil-5-oxo- 2,3,4,6,8-pentazabicyclo [4.3.0] nona-2,7,9-trieno- 9-carboxamida, nº CAS 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough), tamoxifeno ((Z)-2-[4-(1,2-difenilbut-1-enil)fenóxi]-N,N-dimetilethanamina, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®), e doxorubicina (ADRIAMYCIN®), Akti-1/2, HPPD, e rapamicina.

[0334] Mais exemplos de agentes quimioterápicos incluem: oxaliplatina (ELOXATIN®, Sanofi), bortezomibe (VELCADE®, Millennium Pharm.), Sutent (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), letrozol (FEMARA®, Novartis), mesilato de imatinibe (GLEEVEC®, Novartis), XL-518 (inibidor de Mek, Exelixis, WO 2007/044515), ARRY-886 (inibidor de Mek, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca), SF-1126 (inibidor de PI3K, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (inibidor de PI3K Novartis), XL-147 (inibidor de PI3K, Exelixis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), leucovorina (ácido folínico), rapamicina (sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), lapatinib (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), Ionafernib (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), sorafenib (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), irinotecano (CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer), tipifarnib (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), formulações de nanopartículas de paclitaxel ABRAXANE™ (sem Cremophor), formuladas com albumina (American Pharmaceuti Parceiros cal, Schaumberg, IL), vandetanib (rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca), cloranmbucila, AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), temsirolimus (TORISEL®, Wyeth), pazopanibe (GlaxoSmithKline), canfosfamida (TELCYTA®,

Telik), tiotepa e ciclosfosfamida (CYTOXAN®, NEOSAR®); sulfonatos de alquila, tais como bussulfano, improssulfano e pipossulfano; aziridinas, tais como benzodopa, carboquona, meturedopa e uredopa; etileniminas e metilamelaminas incluindo altretamina, trietilenomelamina, trietilenofosforamida, trietilenotiofosforamida e trimetilamelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina e bulatacinona); uma camptotecina (incluindo o análogo sintético topotecano); bristostatina; calistatina; CC-1065 (incluindo os seus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina e bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 e criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluindo os análogos sintéticos, KW-2189 e CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; uma sarcodictina; espongistatina; mostardas de nitrogênio, tais como clorambucila, clornafazina, clorofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, cloridrato de óxido de mecloretamina, melfalano, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostarda de uracila; nitrosoureias tais como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina e ranimustina; antibióticos, tais como os antibióticos enedine (por exemplo, calicheamicina, calicheamicina gama11, calicheamicina omega11 (*Angew Chem. Intl. Ed. Engl.* (1994) 33: 183-186); dinemicina, dinemicina A; bisfosfonatos, tais como clodronato; uma esperamicina; bem como cromóforo de neocarzinostatina e cromóforos de antibióticos cromoproteicos enedina relacionados), aclacinomisinas, actinomicina, authramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicina, dactinomicina, daunorrubicina, detorubicina, 6-díazo-5-oxo-L-norleucina, morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorubicina e desoxidorxicina), epirubicina, esorubicina, idarrubicina, nemorubicina, marcelomicina, mitomicinas tais como mitomicina C, ácido micofenico, nagalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabólitos, tais como metotrexato e 5-fluorouracil (5-FU); análogos do ácido

fólico, tais como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina, tais como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina, tais como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; androgênios, tais como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona; antiadrenais, tais como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedor de ácido fólico, tal como ácido frolínico; aceglatona; glicosídeo de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracila; amsacrina; bestrabucila; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elfornitina; acetato de eliptínio; uma epotilona; etoglucida; nitrato de gálio; hidroxureia; lentinan; lonidainina; maitansinoides, tais como maitansina e ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etil-hidrazida; procarbazona; Complexo polissacarídeo PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofiran; espirogermânio; ácido tenuazoico; triaziquona; 2,2',2''-trichlorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A e anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; manomona; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacitosina; arabinosídeo ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platina, tais como cisplatina e carboplatina; vinblastina; etoposídeo (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrona; teniposídeo; edatrexato; daunomicina; aminopterina; capecitabina (XELODA®, Roche); ibandronato; CPT-11; inibidor de topoisomerase RFS 2000; difluorometilarnitina (DMFO); retinoides, tais como ácido retinoico; e sais, ácidos e derivados farmacêuticamente aceitáveis de qualquer um dos anteriores. Podem ser utilizadas combinações de agentes, como CHP (doxorrubicina, prednisona, ciclofosfamida) ou CHOP (doxorrubicina, prednisona, ciclofosfamida, vincristina).

[0335] Também incluídos na definição de "agente quimioterápico" estão: (i)

agentes anti-hormonais que agem para regular ou inibir a ação do hormônio sobre tumores como antiestrogênios e moduladores de receptor seletivo de estrogênio (SERMs) incluindo, por exemplo, o tamoxifeno (incluindo NOLVADEX®; citrato de tamoxifeno), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, ceoxifeno, LY117018, onapristona e FARESTON® (citrato de toremifina); (ii) os inibidores de aromatase que inibem a enzima aromatase, que regula a produção de estrogênio nas glândulas suprarrenais, tais como, por exemplo, 4,5-imidazóis, aminoglutetimida, MEGASE® (acetato de megestrol), AROMASIN® (exemestano; Pfizer), formestanie, fadrozol, RIVISOR® (vorozol), FEMARA® (letrozol; Novartis,) e ARIMIDEX® (anastrozol; AstraZeneca); (iii) antiandrogênios, tais como flutamida, bicalutamida, nilutamida, leuprolida e goserelina; assim como troxacitabina (um análogo de 1,3-dioxolano nucleosídeo citosina); (iv) inibidores da cinase de proteína como inibidores MEK (WO 2007/044515); (v) inibidores da cinase de lipídeos; (vi) oligonucleotídeos antissentido, particularmente os que inibem a expressão de genes em vias de sinalização implicados na proliferação de células aberrantes, por exemplo, PKC-alfa, Raf e H-Ras, tais como oblimersen (GENASENSE®, Inc. Genta); (vii) ribozimas como inibidores de expressão de VEGF (por exemplo, ANGIOZYME®) e inibidores da expressão de HER2; (viii) vacinas, tais como vacinas de terapia do gene, por exemplo, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® e VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; inibidores da topoisomerase 1 como LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) agentes antiangiogênicos, tal como bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); e sais farmacologicamente aceitáveis, ácidos e derivados de qualquer um dos anteriores.

[0336] Também estão incluídos na definição de “agente quimioterápico” os anticorpos terapêuticos, como alemtuzumab (Campath), bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); cetuximab (ERBITUX, Imclone); panitumumab (VECTIBIX®, Amgen), pertuzumabe (PERJETA™, OMNITARG™, 2C4, Genentech), trastuzumabe (HERCEPTIN®, Genentech), tositumomabe (Bexxar, Corixa) MDX-060 (Medarex) e

o conjugado anticorpo-fármaco, gemtuzumab ozogamicina (MYLOTARG®, Wyeth).

[0337] Anticorpos monoclonais humanizados com potencial terapêutico como agentes quimioterápicos em combinação com os conjugados da divulgação incluem: alemtuzumab, apolizumab, aselizumab, atlizumab, bapineuzumab, bevacizumab, bivatuzumab mertansine, cantuzumab mertansine, cedelizumab, pegol, cidfusituzumab, cidtuzumab, daclizumab, eculizumab, efalizumab, epratuzumab, erlizumab, felvizumab, fontolizumab, Gentuzumab ozogamicina, inotuzumab ozogamicina, ipilimumab, labetuzumab, lintuzumab, teleterapia, mepolizumab, motavizumab, motovizumab, natalizumab, nimotuzumab, nolovizumab, numavizumab, omalizumab, palivizumab, pascolizumab, pecfusituzumab, pectuzumab, Pertuzumab, pexelizumab, ralivizumab, ranibizumab, reslivizumab, reslizumab, resyvizumab, rovelizumab, ruplizumab, sibrotuzumab, siplizumab, sontuzumab, tacatuzumab tetraxetan, tadocizumab, talizumab, tefibazumab, tocilizumab, toralizumab, trastuzumab, tucotuzumab celmoleukin, tucosituzumab, umavizumab, urtoxazumab e visilizumab.

[0338] As composições de acordo com a presente divulgação são de preferência composições farmacêuticas. As composições farmacêuticas de acordo com a presente invenção, e para utilização de acordo com a presente invenção, podem compreender, além do ingrediente ativo, isto é, um composto conjugado, um excipiente, carreador, tampão, estabilizante farmacêuticamente aceitável ou outros materiais bem conhecidos pelos versados na técnica. Tais materiais devem ser não tóxicos e não devem interferir com a eficácia do ingrediente ativo. A natureza precisa do carreador ou outro material dependerá da via de administração, que pode ser oral ou por injeção, por exemplo, cutânea, subcutânea ou intravenosa.

[0339] As composições farmacêuticas para administração oral podem estar na forma de comprimido, cápsula, pó ou líquido. Um comprimido pode compreender um carreador sólido ou um adjuvante. As composições farmacêuticas líquidas

compreendem geralmente um veículo líquido, tal como água, petróleo, óleos animais ou vegetais, óleo mineral ou óleo sintético. Pode ser incluída solução salina fisiológica, dextrose ou outra solução de sacarídeo ou glicóis, tais como etilenoglicol, propilenoglicol ou polietilenoglicol. Uma cápsula pode compreender um carreador sólido, tal como gelatina.

[0340] Para injeção intravenosa, cutânea ou subcutânea, ou injeção no local de aflição, o ingrediente ativo estará na forma de uma solução aquosa parenteralmente aceitável que seja isenta de pirogênios e tenha pH, isotonicidade e estabilidade adequados. Os versados na técnica são bem capazes de preparar soluções adequadas utilizando, por exemplo, veículos isotônicos, tais como injeção de cloreto de sódio, injeção de Ringer, injeção de Ringer lactado. Conservantes, estabilizadores, tampões, antioxidantes e/ou outros aditivos podem ser incluídos, conforme necessário.

#### Dosagem

[0341] Será entendido por um versado na técnica que as dosagens apropriadas do ADC, do agente secundário e/ou agente anti-CD20, e composições compreendendo esses elementos ativos, podem variar de um indivíduo para outro. A determinação da dosagem ideal geralmente envolverá o equilíbrio do nível de benefício terapêutico contra qualquer risco ou efeitos colaterais deletérios. O nível de dosagem selecionado dependerá de uma variedade de fatores incluindo, mas não limitados a, atividade do composto particular, da via de administração, do tempo de administração, da taxa de excreção do composto, da duração do tratamento, outros fármacos, compostos e/ou materiais utilizados em combinação, da gravidade da condição e das espécies, sexo, idade, peso, condição, estado geral de saúde e antecedente médico do paciente. A quantidade de composto e via de administração estarão finalmente à critério do médico, veterinário ou clínico, embora geralmente a dosagem seja selecionada para alcançar concentrações locais no sítio de ação que

alcancem o efeito desejado sem causar efeitos colaterais substanciais prejudiciais ou deletérios.

[0342] Em certos aspectos, a dosagem de ADC é determinada pela expressão de uma primeira proteína alvo observada em uma amostra obtida do sujeito. Assim, o nível ou localização da expressão da primeira proteína alvo na amostra pode ser indicativo de que é necessária uma dose maior ou menor de ADC. Por exemplo, um alto nível de expressão da primeira proteína alvo pode indicar que uma dose mais alta de ADC seria adequada. Em alguns casos, um alto nível de expressão da primeira proteína alvo pode indicar a necessidade de administração de outro agente além do ADC. Por exemplo, administração do ADC em conjunto com um agente quimioterapêutico. Um alto nível de expressão da primeira proteína alvo pode indicar uma terapia mais agressiva.

[0343] Em certos aspectos, a dosagem do agente secundário é determinada pela expressão de uma segunda proteína alvo observada em uma amostra obtida do sujeito. Assim, o nível ou localização da expressão da segunda proteína alvo na amostra pode ser indicativo de que é necessária uma dose maior ou menor de agente secundário. Por exemplo, um alto nível de expressão do agente secundário pode indicar que uma dose mais alta de agente secundário seria adequada. Em alguns casos, um alto nível de expressão da proteína alvo secundária pode indicar a necessidade de administração de outro agente além do agente secundário. Por exemplo, administração do agente secundário em conjunto com um agente quimioterapêutico. Um alto nível de expressão da segunda proteína alvo pode indicar uma terapia mais agressiva.

[0344] Em certos aspectos, a dosagem do agente anti-CD20 é determinada pela expressão de CD20 observada em uma amostra obtida do sujeito. Assim, o nível ou localização da expressão de CD20 na amostra pode ser indicativo de que é necessária uma dose maior ou menor de anti-CD20. Por exemplo, um alto nível de

expressão de CD20 pode indicar que uma dose mais alta de anti-CD20 seria adequada. Em alguns casos, um alto nível de expressão de CD20 pode indicar a necessidade de administração de outro agente além do agente anti-CD20. Por exemplo, administração do agente anti-CD20 em conjunto com um agente quimioterapêutico. Um alto nível de expressão de CD20 pode indicar uma terapia mais agressiva.

[0345] Em certos aspectos, o nível de dosagem é determinado pela expressão de uma primeira proteína alvo nas células neoplásicas em uma amostra obtida do sujeito. Por exemplo, quando o neoplasma alvo é composto ou compreende células neoplásicas que expressam a primeira proteína alvo.

[0346] Em certos aspectos, o nível de dosagem é determinado pela expressão de uma primeira proteína alvo nas células associadas ao neoplasma alvo. Por exemplo, o neoplasma alvo pode ser um tumor sólido composto de, ou compreendendo, células neoplásicas que expressam a primeira proteína alvo. Por exemplo, o neoplasma alvo pode ser um tumor sólido composto ou compreendendo células neoplásicas que não expressam a primeira proteína alvo. As células que expressam a primeira proteína alvo podem ser células neoplásicas ou não neoplásicas associadas ao neoplasma alvo.

[0347] A administração pode ser efetuada em uma dose, contínua ou intermitentemente (por exemplo, em doses divididas em intervalos apropriados) durante todo o curso do tratamento. Os métodos para determinar os meios mais eficazes e a dosagem de administração são bem conhecidos pelos versados na técnica e variarão com a formulação utilizada para terapia, o objetivo da terapia, a(s) célula(s) alvo a ser tratada e o indivíduo a ser tratado. Administrações únicas ou múltiplas podem ser realizadas com o nível de dose e o padrão sendo selecionado pelo médico, veterinário ou clínico.

[0348] Em geral, cada dose adequada do composto ativo está na faixa de



cerca de 100 ng a cerca de 25 mg (mais tipicamente cerca de 1 µg a cerca de 10 mg) por quilograma de peso corporal do indivíduo por dia. Quando o composto ativo é um sal, um éster, uma amida, um pró-fármaco ou semelhante, a quantidade administrada é calculada com base no composto original e assim o peso real a ser utilizado é aumentado proporcionalmente.

[0349] Em uma modalidade, cada composto ativo é administrado a um sujeito humano de acordo com o seguinte regime de dosagem: cerca de 100 mg, 3 vezes ao dia.

[0350] Em uma modalidade, cada composto ativo é administrado a um sujeito humano de acordo com o seguinte regime de dosagem: cerca de 150 mg, 2 vezes por dia.

[0351] Em uma modalidade, cada composto ativo é administrado a um sujeito humano de acordo com o seguinte regime de dosagem: cerca de 200 mg, 2 vezes por dia.

[0352] Contudo, em uma modalidade, cada composto conjugado é administrado a um sujeito humano de acordo com o seguinte regime de dosagem: cerca de 50 ou cerca de 75 mg, 3 ou 4 vezes por dia.

[0353] Em uma modalidade, cada composto conjugado é administrado a um sujeito humano de acordo com o seguinte regime de dosagem: cerca de 100 mg ou cerca de 125 mg, 2 vezes por dia.

[0354] Para o ADC, quando ele é um PBD com ADC, as quantidades de dosagem descritas anteriormente podem ser aplicadas ao conjugado (incluindo a porção de PBD e o ligante ao anticorpo) ou à quantidade eficaz de composto de PBD provida, por exemplo, a quantidade de composto que pode ser liberada após clivagem do ligante.

[0355] A primeira proteína alvo é, de preferência, CD19 ou CD22. O ADC pode compreender um anticorpo anti-CD19 ou um anticorpo anti-CD22. O anticorpo anti-

CD19 pode ser anticorpo RB4v1.2. O anticorpo anti-CD22 pode ser EMabC220. O ADC pode compreender um medicamento que é um dímero de PBD. O ADC pode ser um anti-CD19-ADC e, em particular, ADCX19. O ADC pode ser um anti-CD22-ADC e, em particular, ADCX22. O ADC pode ser um ADC divulgado em WO2014/057117 ou WO2014/057122.

[0356] O agente secundário pode ser Fludarabina ou Citarabina.

[0357] O agente anti-CD20 pode ser um anticorpo anti-CD20 ou conjugado de anticorpo. Anticorpos anti-CD20 adequados ou conjugados de anticorpos incluem rituximab, obinutuzumab, Ibritumomab tiuxetan, tositumomab, Ofatumumab, Ocaratuzumab, Ocrelizumab e Veltuzumab. De preferência, o agente anti-CD20 é o rituximab.

#### Anticorpos

[0358] O termo "anticorpo" aqui é usado no sentido mais amplo e abrange especificamente anticorpos monoclonais, anticorpos policlonais, dímeros, multímeros, anticorpos multiespecíficos (por exemplo, anticorpos biespecíficos), anticorpos intactos (também descritos como anticorpos "de comprimento total") e fragmentos de anticorpos, desde que exibam a atividade biológica desejada, por exemplo, a capacidade de ligar uma primeira proteína alvo (Miller et al (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). Os anticorpos podem ser murinos, humanos, humanizados, quiméricos ou derivados de outras espécies, como coelho, cabra, ovelha, cavalo ou camelo.

[0359] Um anticorpo é uma proteína gerada pelo sistema imunológico que é capaz de reconhecer e se ligar a um antígeno específico. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5ª Ed., Garland Publishing, New York). Um antígeno alvo geralmente possui vários locais de ligação, também chamados epítomos, reconhecidos pelas regiões determinantes de complementaridade (CDRs) em múltiplos anticorpos. Cada anticorpo que se liga

especificamente a um epítopo diferente tem uma estrutura diferente. Assim, um antígeno pode ter mais de um anticorpo correspondente. Um anticorpo pode compreender uma molécula de imunoglobulina completa ou uma porção imunologicamente ativa de uma molécula de imunoglobulina completa, ou seja, uma molécula que contém um sítio de ligação ao antígeno que se liga imuno especificamente a um antígeno de um alvo de interesse ou parte dele, tais alvos, incluindo mas não se limitando a células cancerosas ou células que produzem anticorpos autoimunes associados a uma doença autoimune. A imunoglobulina pode ser de qualquer tipo (por exemplo, IgG, IgE, IgM, IgD e IgA), classe (por exemplo, IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) ou subclasse ou alótipo (por exemplo, G1m1, G1m2, G1m3 humano, non-G1m1 [que é qualquer alótipo que não seja G1m1], G1m17, G2m23, G3m21, G3m28, G3m11, G3m5, G3m13, G3m14, G3m10, G3m15, G3m16, G3m6, G3m24, G3m26, G3m27, A2, A2, A2 Km2 e Km3) da molécula de imunoglobulina. As imunoglobulinas podem ser derivadas de qualquer espécie, incluindo origem humana, de murino ou de coelho.

[0360] Os "fragmentos de anticorpos" compreendem uma porção de um anticorpo de comprimento total, geralmente a ligação ao antígeno ou região variável do mesmo. Exemplos de fragmentos de anticorpo incluem fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> e scFv; diacorpos; anticorpos lineares; fragmentos produzidos por uma biblioteca de expressão de Fab, anticorpos anti-idiotípicos (anti-Id), CDR (região determinante de complementaridade) e fragmentos de ligação a epítomos de qualquer um dos acima, que se ligam imuno especificamente a antígenos de células cancerosas, antígenos virais ou antígenos microbianos, moléculas de anticorpo de cadeia única; e anticorpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticorpo.

[0361] O termo "anticorpo monoclonal", como usado aqui, refere-se a um anticorpo obtido a partir de uma população de anticorpos substancialmente

homogêneos, ou seja, os anticorpos individuais que compõem a população são idênticos, exceto por possíveis mutações que ocorrem naturalmente que podem estar presentes em pequenas quantidades. Os anticorpos monoclonais são altamente específicos, sendo direcionados contra um único sítio antigênico. Além disso, em contraste com as preparações de anticorpos policlonais que incluem anticorpos diferentes direcionados contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticorpo monoclonal é direcionado contra um único determinante no antígeno. Além de sua especificidade, os anticorpos monoclonais são vantajosos, pois podem ser sintetizados não contaminados por outros anticorpos. O modificador "monoclonal" indica o caráter do anticorpo como sendo obtido de uma população substancialmente homogênea de anticorpos, e não deve ser interpretado como exigindo a produção do anticorpo por qualquer método específico. Por exemplo, os anticorpos monoclonais a serem utilizados de acordo com a presente divulgação podem ser produzidos pelo método de hibridoma descrito pela primeira vez por Kohler et al (1975) *Nature* 256:495, ou podem ser produzidos por métodos de DNA recombinante (ver US 4816567) . Os anticorpos monoclonais também podem ser isolados a partir de bibliotecas de anticorpos fágicos utilizando as técnicas descritas em Clackson et al (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks et al (1991) *J. Mol. Biol.*, 222: 581-597 ou de camundongos transgênicos portadores de um sistema de imunoglobulina totalmente humano (Lonberg (2008) *Curr. Opinion* 20(4):450-459).

[0362] Os anticorpos monoclonais aqui incluem especificamente anticorpos "quiméricos" nos quais uma porção da cadeia pesada e/ou leve é idêntica ou homóloga às sequências correspondentes em anticorpos derivados de uma espécie específica ou pertencentes a uma classe ou subclasse de anticorpo específica, enquanto o restante da(s) cadeia(s) é idêntico ou homólogo às sequências correspondentes em anticorpos derivados de outra espécie ou pertencentes a outra classe ou subclasse de anticorpos, bem como fragmentos de tais anticorpos, desde

que exibam a atividade biológica desejada (US 4816567; e Morrison et al. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855). Os anticorpos quiméricos incluem anticorpos "primatizados" compreendendo sequências de ligação a antígeno de domínio variável derivadas de um primata não humano (por exemplo, macaco do mundo antigo ou macaco de grande porte) e sequências de região constante humana.

[0363] Um "anticorpo intacto" neste documento é aquele compreendendo domínios VL e VH, bem como um domínio constante de cadeia leve (CL) e domínios constantes da cadeia pesada, CH1, CH2 e CH3. Os domínios constantes podem ser domínios constantes de sequência nativa (por exemplo, domínios constantes de sequência nativa humana) ou variante de sequência de aminoácidos dos mesmos. O anticorpo intacto pode ter uma ou mais "funções efetoras" que se referem às atividades biológicas atribuíveis à região Fc (uma região Fc de sequência nativa ou região Fc variante da sequência de aminoácidos) de um anticorpo. Exemplos de funções efetoras de anticorpos incluem ligação a C1q; citotoxicidade dependente do complemento; ligação ao receptor Fc; citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos (ADCC); fagocitose; e infrarregulação de receptores de superfície celular, tais como receptor de células B e BCR.

[0364] Dependendo da sequência de aminoácidos do domínio constante de suas cadeias pesadas, os anticorpos intactos podem ser atribuídos a diferentes "classes". Existem cinco classes principais de anticorpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, e vários deles podem ser divididos em "subclasses" (isotipos), por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. Os domínios constantes de cadeia pesada que correspondem às diferentes classes de anticorpos são chamados  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  e  $\mu$ , respectivamente. As estruturas das subunidades e configurações tridimensionais de diferentes classes de imunoglobulinas são bem conhecidas.

#### Breve Descrição dos Desenhos

[0365] As modalidades e experimentos que ilustram os princípios da

divulgação serão agora discutidos com referência às Figuras anexas nas quais:

Figura 1. Sequências

Figura 2. Sinergia *in vitro* de ADCx19 e Rituximab

Figura 3. Sinergia *in vitro* de ADCx19 e Citarabina

Figura 4. Sinergia *in vitro* de ADCx22/Citarabina (A) e ADCx22/Fludarabina (B)

Figura 5. Sinergia *in vitro* de ADCx19/Citarabina (A) e ADCx19/Rituximab (B): dados de grupo único de 5B são mostrados na Figura 5C

Figura 6. Sinergia *in vitro* na linhagem celular de CD19+ve Ramos de ADCx19 com cada um dentre Citarabina (6A), Decitabina (6B), Gencitabina (6C) e Fludarabina (6D)

Figura 7. Sinergia *in vitro* na linhagem celular de CD22+ve Ramos de ADCx22 com cada um dentre Citarabina (7A), Decitabina (7B), Gencitabina (7C) e Fludarabina (7D)

[0366] A divulgação inclui a combinação dos aspectos e recursos preferenciais descritos, exceto quando tal combinação é claramente inadmissível ou expressamente evitada.

[0367] Os títulos das seções usados aqui são apenas para fins organizacionais e não devem ser interpretados como limitando o assunto descrito.

[0368] Aspectos e modalidades da presente divulgação serão agora ilustrados, a título de exemplo, com referência às figuras anexas. Outros aspectos e modalidades serão evidentes para os versados na técnica. Todos os documentos mencionados neste texto são incorporados aqui por referência.

[0369] Em todo este relatório descritivo, incluindo as reivindicações a seguir, a menos que o contexto exija de outra forma, a palavra "compreender" e variações como "compreende" e "compreendendo" serão entendidas como implicando a inclusão de um número inteiro declarado, etapa ou grupo de números inteiros ou

etapas, mas não a exclusão de qualquer outro número inteiro ou etapa ou grupo de números inteiros ou etapas.

[0370] Deve-se notar que, conforme usado no relatório descritivo e nas reivindicações anexas, as formas singulares “um”, “uma” e “o, a” incluem os referentes plurais, a menos que o contexto indique claramente o contrário. As faixas podem ser expressas aqui como de “cerca de” um valor específico e/ou para “cerca de” outro valor específico. Quando essa faixa é expressa, outra modalidade inclui de um valor particular e/ou para outro valor particular. Da mesma forma, quando os valores são expressos como aproximações, pelo uso do antecedente “cerca de”, será entendido que o valor específico forma outra modalidade.

#### ALGUMAS MODALIDADES

[0371] Os parágrafos a seguir descrevem algumas modalidades específicas da presente divulgação:

1. Um método para selecionar um indivíduo como adequado para o tratamento com ADCx19, opcionalmente em combinação com um agente secundário, em que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo tiver sido tratado com um agente anti-CD20.

2. Um método de seleção de um indivíduo como adequado para o tratamento com ADCx19, opcionalmente em combinação com um agente secundário, em que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo estiver sendo tratado com um agente anti-CD20.

3. O método de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo for refratário ao tratamento, ou tratamento adicional, com um agente anti-CD20.

4. Um método para tratamento de um distúrbio em um indivíduo, o método compreendendo:

(i) selecionar um indivíduo como adequado para tratamento por um método

de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 3; e

(ii) administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de ADCx19, opcionalmente em combinação com um agente secundário.

5.O método de acordo com o parágrafo 4, compreendendo ainda administrar um agente anti-CD20 em combinação com ADCx19, opcionalmente em combinação adicional com um agente secundário.

6.Um método para tratamento de um distúrbio em um indivíduo, o método compreendendo a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz de:

ADCx19; e

um agente secundário;

opcionalmente em combinação adicional com um agente anti-CD20.

7.O método de acordo com o parágrafo 6, em que o indivíduo é selecionado para tratamento de acordo com um método de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 3.

8.O método de acordo com qualquer um dos parágrafos 5 a 7, em que o tratamento compreende a administração de ADCx19, opcionalmente em combinação com um agente secundário, antes de um agente anti-CD20, simultâneo com um agente anti-CD20, ou após um agente anti-CD20.

9.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o tratamento compreende ainda a administração de um agente quimioterapêutico.

10.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo é humano.

11.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem um distúrbio ou foi determinado como tendo um distúrbio.

12.O método de acordo com o parágrafo 11, em que o indivíduo tem, ou foi determinado como tendo, um câncer que expressa células não tumorais associadas a tumores CD19 ou CD19+, como células infiltrantes de CD19+.



13.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo está em tratamento com um agente anti-CD20.

14.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo foi tratado com um agente anti-CD20.

15.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo é refratário ao tratamento, ou tratamento adicional, com um agente anti-CD20.

16.O método de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o tratamento aumentou a eficácia em comparação à monoterapia com ADCx19, um agente secundário ou um agente anti-CD20 isoladamente, ou combinações de ADCx19/Citarabina, ADCx19/Fludarabina, ADCx19/um agente anti-CD20, Citarabina/um agente anti-CD20 ou Fludarabina/um agente anti-CD20.

17.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o distúrbio é uma doença proliferativa.

18.O método do parágrafo 17, em que o distúrbio é câncer.

19.O método do parágrafo 18, em que o distúrbio é selecionado do grupo que compreende: Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph + ALL) ou ALL negativa para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL).

20.O método do parágrafo 18, em que o distúrbio é caracterizado pela presença de um ou mais tumores sólidos.

21.O método do parágrafo 20, em que o tumor sólido é câncer pancreático, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça ou pescoço.

22.ADCx19, opcionalmente em combinação com um agente secundário, para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 4 a 21.

23.Uma composição compreendendo ADCx19, opcionalmente em combinação com um agente secundário, para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 4 a 21.

24. Um agente anti-CD20 para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 5 a 21.

25.Composição que compreende um agente anti-CD20, para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 5 a 21.

26.Uso de ADCx19, opcionalmente em combinação com um agente secundário, na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende o método de qualquer um dos parágrafos 4 a 21.

27.Uso de um agente anti-CD20 na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende o método de qualquer um dos parágrafos 5 a 21.

28.Kit compreendendo:

um primeiro medicamento compreendendo ADCx19;

opcionalmente, um segundo medicamento compreendendo um agente secundário;

uma bula que compreende instruções para administração do primeiro medicamento de acordo com o método de qualquer um ou parágrafos 4 a 21.

29.O kit de acordo com o parágrafo 28, compreendendo ainda:

um terceiro medicamento compreendendo um agente anti-CD20.

30.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o agente secundário é um inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi).

31.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 30, em que o inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi) é selecionado entre Ibrutinib (Imbruvica), Acalabrutinib/ACP-196, ONO/GS-4059, Spebrutinib/AVL-292/CC-292, HM71224 (Poseltinib) e BGB-3111 (Zanubrutinib).

32.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 29 em que o agente secundário é um antagonista de PD1.

33.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com o parágrafo 32, caracterizada(o) pelo fato de que o antagonista de PD1 é selecionado dentre pembrolizumab, nivolumab, MEDI0680, PDR001 (espartalizumab), camrelizumab, AUNP12, pidilizumab Cemiplimab (REGN-2810), AMP-224, BGB-A317 (Tisleizumab) e BGB-108.

34.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 29 em que o agente secundário é um antagonista de PD-L1.

35.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 34, em que o antagonista de PD-L1 é selecionado entre atezolizumab (Tecentriq), BMS-936559/MDX-1105, durvalumab/MEDI4736, e MSB0010718C (Avelumab).

36.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 29, em que o agente secundário é um agonista de GITR (proteína relacionada a TNFR induzida por glicocorticoide).

37.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 36, em que o agonista de GITR (proteína relacionada ao NFR induzido por glicocorticoide) é selecionado dentre MEDI1873, TRX518, GWN323, MK-1248, MK 4166, BMS-986156 e INCAGN1876.

38.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 29 em que o agente secundário é um agonista de OX40.

39.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 38, em que o agonista OX40 é selecionado dentre MEDI0562, MEDI6383, MOXR0916,

RG7888, OX40mAb24, INCAGN1949, GSK3174998 e PF-04518600.

40. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 29 em que o agente secundário é um antagonista de CTLA-4.

41. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 40, em que o antagonista de CTLA-4 é selecionado dentre ipilimumab e Tremelimumab.

42. Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 29, em que o agente secundário é Citarabina.

43. Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 29, em que o agente secundário é Fludarabina.

44. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 29 em que o agente secundário é um agente de hipometilação.

45. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 44, em que o agente de hipometilação é selecionado de 5-azacitidina (azacitidina) e 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina).

46. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 29 em que o agente secundário é um agente que regula positivamente a expressão HER2.

47. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 46, em que o agente que regula positivamente a expressão de HER2 é selecionado de gencitabina e tamoxifeno.

48. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o agente anti-CD20 é o rituximab.

49. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o agente anti-CD20 é selecionado dentre obinutuzumab, Ibritumomab tiuxetan, tositumomab, Ofatumumab, Ocaratuzumab, Ocrelizumab e Veltuzumab.

-----

1x. Um método para selecionar um indivíduo como adequado para o

tratamento com ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, em que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo tiver sido tratado com um agente anti-CD20.

2x. Um método de seleção de um indivíduo como adequado para o tratamento com ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, em que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo estiver sendo tratado com um agente anti-CD20.

3x. O método de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo for refratário ao tratamento, ou tratamento adicional, com um agente anti-CD20.

4x. Um método para tratamento de um distúrbio em um indivíduo, o método compreendendo:

(i) selecionar um indivíduo como adequado para tratamento por um método de acordo com qualquer um dos parágrafos 1x a 3x; e

(ii) administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário.

5x. O método de acordo com o parágrafo 4x, compreendendo ainda administrar um agente anti-CD20 em combinação com ADCx22, opcionalmente em combinação adicional com um agente secundário.

6x. Um método para tratamento de um distúrbio em um indivíduo, o método compreendendo a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz de:

ADCx22; e

um agente secundário;

opcionalmente em combinação adicional com um agente anti-CD20.

7x. O método de acordo com o parágrafo 6x, em que o indivíduo é selecionado para tratamento de acordo com um método de acordo com qualquer um dos parágrafos 1x a 3x.

8x.O método de acordo com qualquer um dos parágrafos 5x a 7x, em que o tratamento compreende a administração de ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, antes de um agente anti-CD20, simultâneo com um agente anti-CD20, ou após um agente anti-CD20.

9x.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o tratamento compreende ainda a administração de um agente quimioterapêutico.

10x.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo é humano.

11x.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem um distúrbio ou foi determinado como tendo um distúrbio.

12x.O método de acordo com o parágrafo 11x, em que o indivíduo tem, ou foi determinado como tendo, um câncer que expressa células não tumorais associadas a tumores CD22+, como células infiltrantes de CD22+.

13x.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo está em tratamento com um agente anti-CD20.

14x.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo foi tratado com um agente anti-CD20.

15x.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo é refratário ao tratamento, ou tratamento adicional, com um agente anti-CD20.

16x.O método de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o tratamento aumentou a eficácia em comparação à monoterapia com ADCx22, um agente secundário ou um agente anti-CD20 isoladamente, ou combinações de ADCx22/Citarabina, ADCx22/Fludarabina, ADCx22/um agente anti-CD20, Citarabina/um agente anti-CD20 ou Fludarabina/um agente anti-CD20.

17x.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o distúrbio é uma doença proliferativa.

18x.O método do parágrafo 17x, em que o distúrbio é câncer.

19x.O método do parágrafo 18x, em que o distúrbio é selecionado do grupo que compreende: Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph + ALL) ou ALL negativa para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL).

20x.O método do parágrafo 18x, em que o distúrbio é caracterizado pela presença de um ou mais tumores sólidos.

21x.O método do parágrafo 20x, em que o tumor sólido é câncer pancreático, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça ou pescoço.

22x.ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 4x a 21x.

23x.Uma composição compreendendo ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 4x a 21x.

24x. Um agente anti-CD20 para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 5x a 21x.

25x.Uma composição que compreende um agente anti-CD20, para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 5x a 21x.

26x.Uso de ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende o método de qualquer um dos

parágrafos 4x a 21x.

27x. Uso de um agente anti-CD20 na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende o método de qualquer um dos parágrafos 5x a 21x.

28x. Kit compreendendo:

um primeiro medicamento compreendendo ADCx22;

opcionalmente, um segundo medicamento compreendendo um agente secundário;

uma bula que compreende instruções para administração do primeiro medicamento de acordo com o método de qualquer um ou parágrafos 4x a 21x.

29x. O kit de acordo com o parágrafo 28x, compreendendo ainda:

um terceiro medicamento compreendendo um agente anti-CD20.

30x. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o agente secundário é um inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi).

31x. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 30x, em que o inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi) é selecionado entre Ibrutinib (Imbruvica), Acalabrutinib/ACP-196, ONO/GS-4059, Spebrutinib/AVL-292/CC-292, HM71224 (Poseltinib) e BGB-3111 (Zanubrutinib).

32x. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1x a 29x em que o agente secundário é um antagonista de PD1.

33x. Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com o parágrafo 32x, caracterizada(o) pelo fato de que o antagonista de PD1 é selecionado dentre pembrolizumab, nivolumab, MEDI0680, PDR001 (espartalizumab), camrelizumab, AUNP12, pidilizumab Cemiplimab (REGN-2810), AMP-224, BGB-A317 (Tisleizumab) e BGB-108.

34x. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos



parágrafos 1x a 29x em que o agente secundário é um antagonista de PD-L1.

35x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 34x, em que o antagonista de PD-L1 é selecionado entre atezolizumab (Tecentriq), BMS-936559/MDX-1105, durvalumab/MEDI4736, e MSB0010718C (Avelumab).

36x.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1x a 29x, em que o agente secundário é um agonista de GITR (proteína relacionada a NFR induzido por glicocorticoide).

37x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 36x, em que o agonista de GITR (proteína relacionada ao NFR induzido por glicocorticoide) é selecionado dentre MEDI1873, TRX518, GWN323, MK-1248, MK 4166, BMS-986156 e INCAGN1876.

38x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1x a 29x em que o agente secundário é um agonista de OX40.

39x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 38x, em que o agonista OX40 é selecionado dentre MEDI0562, MEDI6383, MOXR0916, RG7888, OX40mAb24, INCAGN1949, GSK3174998 e PF-04518600.

40x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1x a 29x em que o agente secundário é um antagonista de CTLA-4.

41x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 40x, em que o antagonista de CTLA-4 é selecionado dentre ipilimumab e Tremelimumab.

42x.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1x a 29x, em que o agente secundário é Citarabina.

43x.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1x a 29x, em que o agente secundário é Fludarabina.

44x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1x a 29x em que o agente secundário é um agente de hipometilação.

45x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 44x, em

que o agente de hipometilação é selecionado de 5-azacitidina (azacitidina) e 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina).

46x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1x a 29x em que o agente secundário é um agente que regula positivamente a expressão HER2.

47x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 46x, em que o agente que regula positivamente a expressão de HER2 é selecionado de gencitabina e tamoxifeno.

48x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o agente anti-CD20 é o rituximab.

49x.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o agente anti-CD20 é selecionado dentre obinutuzumab, Ibritumomab tiuxetan, tositumomab, Ofatumumab, Ocaratuzumab, Ocrelizumab e Veltuzumab.

-----

1a.Um método para tratamento de câncer em um indivíduo, o método compreendendo a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz de ADCX19, um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20.

2a.Uma primeira composição compreendendo ADCX19 para uso em um método de tratamento de câncer em um indivíduo, em que o tratamento compreende a administração da primeira composição em combinação com uma segunda composição compreendendo um agente secundário e, opcionalmente, em combinação com uma terceira composição compreendendo um agente anti-CD20.

3a.Uma primeira composição compreendendo um agente secundário para uso em um método de tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende a administração da primeira composição em combinação com uma segunda composição compreendendo ADCX19 e, opcionalmente, em combinação com uma terceira composição compreendendo um agente anti-CD20.

4a. Uso de ADCX19 na fabricação de um medicamento para tratamento de câncer em um indivíduo, em que o medicamento compreende ADCX19, e em que o tratamento compreende administração do medicamento em combinação com uma composição que compreende um agente secundário e, opcionalmente, em combinação adicional com um agente anti-CD20.

5a. Uso de um agente secundário na fabricação de um medicamento para tratamento de câncer em um indivíduo, em que o tratamento compreende a administração do medicamento em combinação com uma composição compreendendo ADCX19, e opcionalmente em combinação adicional com uma composição compreendendo um agente anti-CD20.

6a. Kit compreendendo:

um primeiro medicamento compreendendo ADCX19;

um segundo medicamento compreendendo um agente secundário;

opcionalmente, um terceiro medicamento compreendendo um agente anti-CD20; e, adicionalmente opcionalmente,

uma bula que compreende instruções para administração do primeiro medicamento a um indivíduo em combinação com o segundo medicamento e, opcionalmente, o terceiro medicamento, se presente, para o tratamento de câncer.

7a. Um kit compreendendo um medicamento compreendendo ADCX19 e uma bula compreendendo instruções para administração do medicamento a um indivíduo em combinação com uma composição compreendendo um agente secundário e, opcionalmente, em combinação adicional com uma composição compreendendo um agente anti-CD20, para o tratamento de câncer.

8a. Um kit compreendendo um medicamento compreendendo um agente secundário e uma bula compreendendo instruções para administração do medicamento a um indivíduo em combinação com uma composição compreendendo ADCX19, e opcionalmente em combinação adicional com uma composição

compreendendo um agente anti-CD20, para o tratamento de câncer.

9a. Uma composição farmacêutica compreendendo ADCX19, um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20.

10a. Um método de tratamento de câncer em um indivíduo, o método compreendendo a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz da composição do parágrafo 9.

11a. A composição do parágrafo 9 para uso em um método de tratamento de câncer em um indivíduo.

12a. O uso da composição do parágrafo 9 na fabricação de um medicamento para o tratamento de câncer em um indivíduo.

13a. Um kit compreendendo a composição do parágrafo 9 e um conjunto de instruções para administração do medicamento a um indivíduo para o tratamento de câncer.

14a. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o tratamento compreende a administração de ADCX19 e um agente secundário antes de um agente anti-CD20, simultaneamente com um agente anti-CD20 ou depois do agente anti-CD20.

15a. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o tratamento compreende ainda a administração de um agente quimioterapêutico.

16a. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo é humano.

17a. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem um distúrbio ou foi determinado como tendo câncer.

18a. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem, ou foi determinado como tendo, um câncer caracterizado pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD19+ve e

CD19-ve.

19a.A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem, ou foi determinado como tendo, um câncer caracterizado pela presença de uma neoplasia compreendendo ou composta por células neoplásicas CD19-ve.

20a.A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o câncer ou neoplasia é todo ou parte de um tumor sólido.

21a.A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem, ou foi determinado como tendo, um câncer que expressa células não tumorais associadas a tumores CD19 ou CD19+, como células infiltrantes de CD19+.

22a.A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o tratamento:

- a)trata eficazmente uma ampla gama de distúrbios,
- b)trata eficazmente distúrbios resistentes, refratários ou recidivados,
- c)tem uma taxa de resposta aumentada e/ou
- d)aumentou a durabilidade;

em comparação com o tratamento com o ADCX19 ou com um agente secundário isolado.

23a.A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o câncer é selecionado do grupo que compreende: Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL), leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), leucemia mieloide aguda (AML) e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (PH+ALL) ou cromossomo negativo para

Filadélfia ALL (Ph-ALL) e tumores sólidos, tumores sólidos de câncer de pâncreas, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais ou câncer de cabeça e pescoço.

.24a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o agente secundário é um inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi).

25a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 24a, em que o inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi) é selecionado entre Ibrutinib (Imbruvica), Acalabrutinib/ACP-196, ONO/GS-4059, Spebrutinib/AVL-292/CC-292, HM71224 (Poseltinib) e BGB-3111 (Zanubrutinib).

26a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 23a em que o agente secundário é um antagonista de PD1.

27a.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com o parágrafo 26a, em que o antagonista de PD1 é selecionado dentre pembrolizumab, nivolumab, MEDI0680, PDR001 (espartalizumab), camrelizumab, AUNP12, pidilizumab Cemiplimab (REGN-2810), AMP-224, BGB-A317 (Tisleizumab) e BGB-108.

28a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 23a em que o agente secundário é um antagonista de PD-L1.

29a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 28a, em que o antagonista de PD-L1 é selecionado entre atezolizumab (Tecentriq), BMS-936559/MDX-1105, durvalumab/MEDI4736, e MSB0010718C (Avelumab).

30a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 23a, em que o agente secundário é um agonista de GITR (proteína relacionada a NFR induzido por glicocorticoide).

31a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 30a, em que o agonista de GITR (proteína relacionada ao NFR induzido por glicocorticoide) é

selecionado dentre MEDI1873, TRX518, GWN323, MK-1248, MK 4166, BMS-986156 e INCAGN1876.

32a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 23a em que o agente secundário é um agonista de OX40.

33a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 32a, em que o agonista OX40 é selecionado dentre MEDI0562, MEDI6383, MOXR0916, RG7888, OX40mAb24, INCAGN1949, GSK3174998 e PF-04518600.

34a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 23a em que o agente secundário é um antagonista de CTLA-4.

35a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 34a, em que o antagonista de CTLA-4 é selecionado dentre ipilimumab e Tremelimumab.

36a.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 23a, em que o agente secundário é Citarabina.

37a.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 23a, em que o agente secundário é Fludarabina.

38a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 23a em que o agente secundário é um agente de hipometilação.

39a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 38a, em que o agente de hipometilação é selecionado de 5-azacitidina (azacitidina) e 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina).

40a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 23a em que o agente secundário é um agente que regula positivamente a expressão HER2.

41a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 40a, em que o agente que regula positivamente a expressão de HER2 é selecionado de gencitabina e tamoxifeno.

42a.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo

anterior, em que o agente anti-CD20 é o rituximab.

43a. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o agente anti-CD20 é selecionado dentre obinutuzumab, Ibritumomab tiuxetan, tositumomab, Ofatumumab, Ocaratuzumab, Ocrelizumab e Veltuzumab.

-----

1b. Um método para tratamento de câncer em um indivíduo, o método compreendendo a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz de ADCX22, um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20.

2b. Uma primeira composição compreendendo ADCX22 para uso em um método de tratamento de câncer em um indivíduo, em que o tratamento compreende a administração da primeira composição em combinação com uma segunda composição compreendendo um agente secundário e, opcionalmente, em combinação com uma terceira composição compreendendo um agente anti-CD20.

3b. Uma primeira composição compreendendo um agente secundário para uso em um método de tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende a administração da primeira composição em combinação com uma segunda composição compreendendo ADCX22 e, opcionalmente, em combinação com uma terceira composição compreendendo um agente anti-CD20.

4b. Uso de ADCX22 na fabricação de um medicamento para tratamento de câncer em um indivíduo, em que o medicamento compreende ADCX22, e em que o tratamento compreende administração do medicamento em combinação com uma composição que compreende um agente secundário e, opcionalmente, em combinação adicional com um agente anti-CD20.

5b. Uso de um agente secundário na fabricação de um medicamento para tratamento de câncer em um indivíduo, em que o tratamento compreende a administração do medicamento em combinação com uma composição compreendendo ADCX22, e opcionalmente em combinação adicional com uma



composição compreendendo um agente anti-CD20.

6b.Kit compreendendo:

um primeiro medicamento compreendendo ADCX22;

um segundo medicamento compreendendo um agente secundário;

opcionalmente, um terceiro medicamento compreendendo um agente anti-CD20; e, adicionalmente opcionalmente,

uma bula que compreende instruções para administração do primeiro medicamento a um indivíduo em combinação com o segundo medicamento e, opcionalmente, o terceiro medicamento, se presente, para o tratamento de câncer.

7b.Um kit compreendendo um medicamento compreendendo ADCX22 e uma bula compreendendo instruções para administração do medicamento a um indivíduo em combinação com uma composição compreendendo um agente secundário e, opcionalmente, em combinação adicional com uma composição compreendendo um agente anti-CD20, para o tratamento de câncer.

8b.Um kit compreendendo um medicamento compreendendo um agente secundário e uma bula compreendendo instruções para administração do medicamento a um indivíduo em combinação com uma composição compreendendo ADCX22, e opcionalmente em combinação adicional com uma composição compreendendo um agente anti-CD20, para o tratamento de câncer.

9b.Uma composição farmacêutica compreendendo ADCX22, um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20.

10b.Um método de tratamento de câncer em um indivíduo, o método compreendendo a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz da composição do parágrafo 9.

11b.A composição do parágrafo 9 para uso em um método de tratamento de câncer em um indivíduo.

12b.O uso da composição do parágrafo 9 na fabricação de um medicamento

para o tratamento de câncer em um indivíduo.

13b. Um kit compreendendo a composição do parágrafo 9 e um conjunto de instruções para administração do medicamento a um indivíduo para o tratamento de câncer.

14b. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o tratamento compreende a administração de ADCX22 e um agente secundário antes de um agente anti-CD20, simultaneamente com um agente anti-CD20 ou depois do agente anti-CD20.

15b. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o tratamento compreende ainda a administração de um agente quimioterapêutico.

16b. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo é humano.

17b. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem um distúrbio ou foi determinado como tendo câncer.

18b. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem, ou foi determinado como tendo, um câncer caracterizado pela presença de uma neoplasia compreendendo células CD22 + ve e CD22-ve.

19b. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem, ou foi determinado como tendo, um câncer caracterizado pela presença de uma neoplasia compreendendo ou composta por células neoplásicas CD22-ve.

20b. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o câncer ou neoplasia é todo ou parte de um tumor sólido.

21b. A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem, ou foi determinado como tendo, um câncer que

expressa células não tumorais associadas a tumores CD22+, como células infiltrantes de CD22+.

22b.A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o tratamento:

- a)trata eficazmente uma ampla gama de distúrbios,
- b)trata eficazmente distúrbios resistentes, refratários ou recidivados,
- c)tem uma taxa de resposta aumentada e/ou
- d)aumentou a durabilidade;

em comparação com o tratamento com o ADCX22 ou com um agente secundário isolado.

23b.A composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o câncer é selecionado do grupo que compreende: Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL), leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), leucemia mieloide aguda (AML) e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (PH+ALL) ou cromossomo negativo para Filadélfia ALL (Ph-ALL) e tumores sólidos, tumores sólidos de câncer de pâncreas, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais ou câncer de cabeça e pescoço.

24b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o agente secundário é um inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi).

25b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 24b, em que o inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi) é selecionado entre Ibrutinib

(Imbruvica), Acalabrutinib/ACP-196, ONO/GS-4059, Spebrutinib/AVL-292/CC-292, HM71224 (Poseltinib) e BGB-3111 (Zanubrutinib).

26b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1b a 23b em que o agente secundário é um antagonista de PD1.

27b.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com o parágrafo 26b, caracterizada(o) pelo fato de que o antagonista de PD1 é selecionado dentre pembrolizumab, nivolumab, MEDI0680, PDR001 (espartalizumab), camrelizumab, AUNP12, pidilizumab Cemiplimab (REGN-2810), AMP-224, BGB-A317 (Tisleizumab) e BGB-108.

28b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1b a 23b em que o agente secundário é um antagonista de PD-L1.

29b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 28b, em que o antagonista de PD-L1 é selecionado entre atezolizumab (Tecentriq), BMS-936559/MDX-1105, durvalumab/MEDI4736, e MSB0010718C (Avelumab).

30b.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1b a 23b, em que o agente secundário é um agonista de GITR (proteína relacionada a NFR induzido por glicocorticoide).

31b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 30b, em que o agonista de GITR (proteína relacionada ao NFR induzido por glicocorticoide) é selecionado dentre MEDI1873, TRX518, GWN323, MK-1248, MK 4166, BMS-986156 e INCAGN1876.

32b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1b a 23b em que o agente secundário é um agonista de OX40.

33b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 32b, em que o agonista OX40 é selecionado dentre MEDI0562, MEDI6383, MOXR0916, RG7888, OX40mAb24, INCAGN1949, GSK3174998 e PF-04518600.

34b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos

parágrafos 1b a 23b em que o agente secundário é um antagonista de CTLA-4.

35b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 34b, em que o antagonista de CTLA-4 é selecionado dentre ipilimumab e Tremelimumab.

36b.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1b a 23b, em que o agente secundário é Citarabina.

37b.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1b a 23b, em que o agente secundário é Fludarabina.

38b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1b a 23b em que o agente secundário é um agente de hipometilação.

39b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 38b, em que o agente de hipometilação é selecionado de 5-azacitidina (azacitidina) e 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina).

40b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1b a 23b em que o agente secundário é um agente que regula positivamente a expressão HER2.

41b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 40b, em que o agente que regula positivamente a expressão de HER2 é selecionado de gencitabina e tamoxifeno.

42b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o agente anti-CD20 é o rituximab.

43b.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o agente anti-CD20 é selecionado dentre obinutuzumab, Ibritumomab tiuxetan, tositumomab, Ofatumumab, Ocaratuzumab, Ocrelizumab e Veltuzumab.

#### DECLARAÇÕES DA INVENÇÃO

1.Un método para selecionar um indivíduo como adequado para tratamento com uma combinação de um ADC e um agente secundário, em que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo tiver sido tratado com um agente anti-

CD20.

2. Um método para selecionar um indivíduo como adequado para tratamento com uma combinação de um ADC e um agente secundário, em que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo estiver sendo tratado com um agente anti-CD20.

3. O método de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo for refratário ao tratamento, ou tratamento adicional, com o agente anti-CD20.

4. Um método para tratamento de um distúrbio em um indivíduo, o método compreendendo:

(i) selecionar um indivíduo como adequado para tratamento por um método de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 3; e

(ii) administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz da combinação de um ADC e um agente secundário.

5. O método de acordo com o parágrafo 4, compreendendo ainda a administração de um agente anti-CD20 em combinação com a combinação de um ADC e um agente secundário.

6. Um método para tratamento de um distúrbio em um indivíduo, o método compreendendo a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um ADC, um agente secundário e um agente anti-CD20.

7. O método de acordo com o parágrafo 6, em que o indivíduo é selecionado para tratamento de acordo com um método de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 3.

8. O método de acordo com qualquer um dos parágrafos 5 a 7, em que o tratamento compreende administrar o ADC e um agente secundário antes do agente anti-CD20, simultaneamente com o agente anti-CD20 ou após o agente anti-CD20.

9. O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o tratamento

compreende ainda a administração de um agente quimioterapêutico.

10.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo é humano.

11.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo tem um distúrbio ou foi determinado como tendo um distúrbio.

12.O método de acordo com o parágrafo 11, em que o indivíduo tem, ou foi determinado como tendo, um câncer que expressa células não tumorais associadas a tumores CD19 ou CD19+, como células infiltrantes de CD19+.

13.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo está em tratamento com um agente anti-CD20.

14.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo foi tratado com um agente anti-CD20.

15.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o indivíduo é refratário ao tratamento, ou tratamento adicional, com o agente anti-CD20.

16.O método de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o tratamento tem eficácia aumentada em comparação com a monoterapia com o agente ADC ou anti-CD20 isoladamente.

17.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o ADC é um anti-CD19 ADC.

18.O método de acordo com o parágrafo 17, em que o anti-CD19 ADC é ADCx19.

19.O método de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 16, em que o ADC é um anti-CD22 ADC.

20.O método de acordo com o parágrafo 19, em que o anti-CD22 ADC é ADCx22.

21.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o distúrbio é uma doença proliferativa.

22.O método do parágrafo 21, em que o distúrbio é câncer.

23.O método do parágrafo 22, em que o distúrbio é selecionado do grupo que compreende: Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL), linfoma de células B da zona marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v), e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph + ALL) ou ALL negativa para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL).

24.O método do parágrafo 22, em que o distúrbio é caracterizado pela presença de um ou mais tumores sólidos.

25.O método do parágrafo 24, em que o tumor sólido é câncer pancreático, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais e câncer de cabeça ou pescoço.

26.O método de acordo com qualquer parágrafo anterior, em que o agente anti-CD20 é selecionado do grupo que consiste em: rituximab, obinutuzumab, Ibritumomab tiuxetan, tositumomab, Ofatumumab, Ocaratuzumab, Ocrelizumab e Veltuzumab.

27.O método de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 25, em que o agente anti-CD20 é o rituximab.

28.Um ADC para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 4 a 24.

29.Uma composição que compreende um ADC, para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 4 a 27.

30. Um agente secundário para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 4 a 27.

31.Uma composição que compreende um agente secundário, para uso em



um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 4 a 27.

32. Um agente anti-CD20 para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 5 a 27.

33. Composição que compreende um agente anti-CD20, para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer um dos parágrafos 5 a 27.

34. Uso de um ADC na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende o método de qualquer um dos parágrafos 4 a 27.

35. Uso de um agente secundário na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende o método de qualquer um dos parágrafos 4 a 27.

36. Uso de um agente anti-CD20 na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende o método de qualquer um dos parágrafos 5 a 27.

37. Kit compreendendo:

um primeiro medicamento compreendendo um ADC;

uma bula que compreende instruções para administração do primeiro medicamento de acordo com o método de qualquer um ou parágrafos 4 a 27.

38. O kit de acordo com o parágrafo 37, compreendendo ainda:

Um segundo medicamento compreendendo um agente anti-CD20.

39. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos anteriores, em que o agente secundário é um inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi).

40. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 39, em que o inibidor da tirosina cinase de Bruton (BTKi) é selecionado entre Ibrutinib (Imbruvica), Acalabrutinib/ACP-196, ONO/GS-4059, Spebrutinib/AVL-292/CC-292, HM71224 (Poseltinib) e BGB-3111 (Zanubrutinib).

41. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 38 em que o agente secundário é um antagonista de PD1.

42. Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com o parágrafo 41, caracterizada(o) pelo fato de que o antagonista de PD1 é selecionado dentre pembrolizumab, nivolumab, MEDI0680, PDR001 (espartalizumab), camrelizumab, AUNP12, pidilizumab Cemiplimab (REGN-2810), AMP-224, BGB-A317 (Tisleizumab) e BGB-108.

43. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 38 em que o agente secundário é um antagonista de PD-L1.

44. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 43, em que o antagonista de PD-L1 é selecionado entre atezolizumab (Tecentriq), BMS-936559/MDX-1105, durvalumab/MEDI4736, e MSB0010718C (Avelumab).

45. Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 38, em que o agente secundário é um agonista de GITR (proteína relacionada a NFR induzido por glicocorticoide).

46. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 45, em que o agonista de GITR (proteína relacionada ao NFR induzido por glicocorticoide) é selecionado dentre MEDI1873, TRX518, GWN323, MK-1248, MK 4166, BMS-986156 e INCAGN1876.

47. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 38 em que o agente secundário é um agonista de OX40.

48. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 47, em que o agonista OX40 é selecionado dentre MEDI0562, MEDI6383, MOXR0916, RG7888, OX40mAb24, INCAGN1949, GSK3174998 e PF-04518600.

49. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 38 em que o agente secundário é um antagonista de CTLA-4.

50. Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 49, em

que o antagonista de CTLA-4 é selecionado dentre ipilimumab e Tremelimumab.

51.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 38, em que o agente secundário é Citarabina.

52.Uma composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 38, em que o agente secundário é Fludarabina.

53.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 38 em que o agente secundário é um agente de hipometilação.

54.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 53, em que o agente de hipometilação é selecionado de 5-azacitidina (azacitidina) e 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina).

55.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 38 em que o agente secundário é um agente que regula positivamente a expressão HER2.

56.Uma composição, método, uso ou kit de acordo com o parágrafo 55, em que o agente que regula positivamente a expressão de HER2 é selecionado de gencitabina e tamoxifeno.

### **.EXEMPLOS**

[0372] Nos seguintes exemplos:

-o FTP é de preferência CD19 ou CD22.

-Linhas celulares expressando CD19 adequadas para uso nos exemplos incluem Células Ramos, Daudi, Raji, WSU-DLCL e NALM-6.

-Linhas celulares expressando CD22 adequadas para uso nos exemplos incluem Células Ramos, Daudi, Raji, WSU-DLCL e NALM-6.

-Doença A - Linfoma difuso de células B grandes/DLBC é um tipo agressivo de linfoma não Hodgkin que se desenvolve a partir das células B no sistema linfático. Constitui o maior subgrupo de linfoma não Hodgkin.

-Doença B - Linfoma de células do manto/MCL é um NHL raro de células B

que afeta mais frequentemente homens com mais de 60 anos de idade. A doença pode ser agressiva (crescimento rápido), mas também pode se comportar de maneira mais indolente (crescimento lento) em alguns pacientes. O MCL compreende cerca de cinco por cento de todos os NHLs.

-Doença C - Linfoma folicular/FL é um tipo de NHL bastante indolente, com longo tempo de sobrevivência, mas para o qual é muito difícil atingir a cura; também pode se transformar em formas mais agressivas de linfomas.

#### Exemplo 1

[0373] Para mostrar que um PBD-ADC pode induzir ICD e, portanto, pode ser um agente de combinação adequado com fármacos imuno-oncológicos (IO), as linhagens celulares que expressam a primeira proteína alvo (FTP) serão incubadas por 0, 6, 24 e 48 horas com etoposídeo (controle negativo) e oxaliplatina (controle positivo), 1 µg/mL de ADC, 1 µg/mL de anti-FTP (o anticorpo no ADC) e 1 µg/mL de B12-SG3249 (um ADC de controle sem ligação com a mesma carga útil de PBD que ADC).

[0374] Após a incubação, a quantidade de AnnexinV-/PI+ (células apoptóticas precoces) será medida por citometria de fluxo, juntamente com a sobreexpressão da calreticulina de superfície e HSP-70. O estresse de ER será medido por análises de Northern blot da fosforilação de IRE1, fosforilação de ATF4 e JNK.

#### Exemplo 2

[0375] Em um experimento separado, as linhagens celulares que expressam FTPs serão incubadas por 0, 6, 24 e 48 horas com etoposídeo (controle negativo) e oxaliplatina (controle positivo), 1 µg/mL de ADC (ADC direcionado ao FTP com uma ogiva de dímero de PBD), 1 µg/mL de anti-FTP (o anticorpo no ADC) e 1 µg/mL de B12-SG3249 (um ADC de controle sem ligação com a mesma carga útil de PBD que ADC).

[0376] Após a incubação, as células são lavadas e alimentadas com células

dendríticas humanas (DCs) por mais 24 horas. A ativação das DCs é subsequentemente medida pelo aumento da expressão da superfície de CD86 na população de DC (conforme determinado por citometria de fluxo) e medindo a liberação mediada por DC de IL-8 e MIP2.

### Exemplo 3

[0377] O objetivo deste estudo é avaliar preliminarmente a segurança, tolerabilidade, atividade farmacológica e clínica dessa combinação.

[0378] Os seguintes tipos de câncer foram escolhidos para estudo: Doença A, Doença B e Doença C

[0379] Existem evidências de eficácia como agentes únicos para ambos os fármacos:

- ADC (ver, por exemplo, WO2014/057117, WO2016/166298, WO2014/057122, e WO2016/166307)

- Agente secundário (ver KS Peggs et al.2009, Clinical and Experimental Immunology, 157: 9–19 [doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03912.x])

[0380] O objetivo principal deste estudo é explorar se esses agentes podem ser combinados com segurança e, em caso afirmativo, identificarão a(s) dose(s) e os regimes apropriados para estudos futuros. O estudo também avaliará se cada combinação induz alterações farmacológicas no tumor que sugerem potencial benefício clínico.

[0381] Além disso, fornecerá evidências preliminares de que uma combinação pode aumentar a taxa de resposta e a durabilidade da resposta em comparação com os dados publicados para tratamento com ADC de agente único ou agente secundário.

[0382] Cada grupo de doença pode incluir um subconjunto de pacientes tratados anteriormente com o agente secundário para explorar se a terapia combinada pode superar a resistência à terapia com agente secundário. Para cada doença, não se pretende aplicar seleção molecular específica, pois os dados disponíveis no

momento geralmente não suportam a exclusão de pacientes com base em testes de diagnóstico molecular aprovados.

Justificativa para a dose inicial de ADC

[0383] O RDE já estabelecido para ADC (em ug/kg administrado a cada três semanas) será usado para todos os pacientes deste estudo. Para garantir a segurança do paciente, será usada uma dose inicial abaixo de RDE; o nível da dose inicial será aquele em que o benefício do paciente ainda possa ser demonstrado no estudo de ADC1, sugerindo que os pacientes inscritos nesse nível de dose obterão pelo menos algum benefício ao participar.

Justificativa para a dose inicial do agente secundário

[0384] O RDE já estabelecido para o agente secundário (em ug/kg administrado a cada três semanas) será usado para todos os pacientes deste estudo. Para garantir a segurança do paciente, será usada uma dose inicial abaixo de RDE; o nível da dose inicial será aquele em que o benefício do paciente ainda possa ser demonstrado no estudo de SA1, sugerindo que os pacientes inscritos nesse nível de dose obterão pelo menos algum benefício ao participar.

Objetivos e pontos finais do teste relacionados

Objetivo	Ponto final
<i>Objetivo primário</i> Caracterizar a segurança e a tolerabilidade do ADC em combinação com o agente secundário e identificar a dose e os horários recomendados para estudos futuros	Frequência e gravidade dos EAs e SAEs emergentes do tratamento Alterações entre os parâmetros laboratoriais da linha de base e após a linha de base e os sinais vitais Incidência de toxicidade limitante da dose (DLTs) durante o primeiro ciclo de tratamento (somente escalonamento da dose) Frequência de interrupções e reduções de dose

<p><i>Objetivos secundários</i></p> <p>Avaliar a atividade clínica da combinação de ADC com o agente secundário</p> <p>Caracterizar o perfil farmacocinético (PK) de cada um dos dois compostos dentre ADC e o agente secundário</p> <p>Evidências de imunogenicidade e ADAs para ADC</p>	<p>ORR, DOR, PFS, OS</p> <p>AUC e C<sub>máx</sub> para cada composto</p> <p>Anticorpos Antifármacos (ADAs) antes, durante e após o tratamento com ADC</p>
<p><i>Objetivos Exploratórios</i></p> <p>Examinar a correlação potencial dos perfis farmacocinéticos com segurança/tolerabilidade e eficácia</p> <p>Caracterizar alterações no infiltrado imunológico nos tumores</p> <p>Caracterizar alterações nos níveis circulantes de citocinas no plasma e marcadores de ativação nas células imunes em circulação</p>	<p>Coeficientes de correlação entre AUC e/ou C<sub>máx</sub> de cada composto ou medida de composto e qualquer uma das variáveis de segurança ou eficácia</p> <p>Imuno-histoquímica de biópsias de tumores antes e durante o tratamento,</p> <p>Medições (por exemplo, via ELISA) de citocinas imunologicamente relevantes no plasma ou soro; níveis de coloração para marcadores de ativação de células imunes circulantes (por exemplo, FACS)</p>

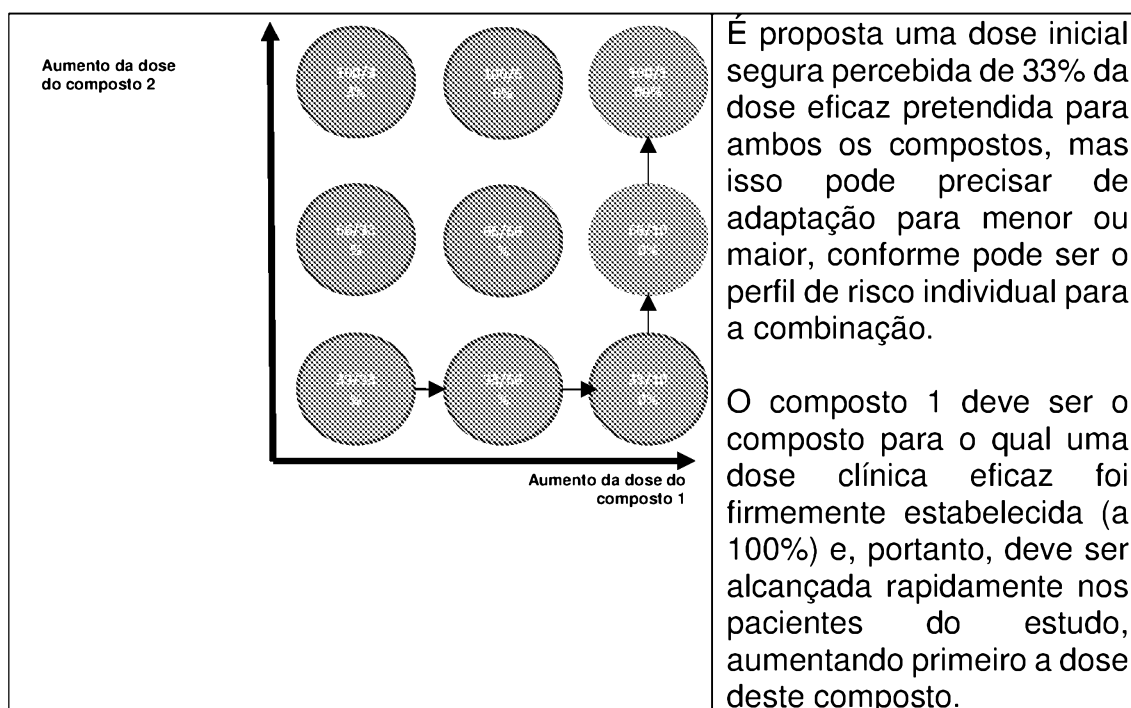
#### Modelo de estudo

[0385] Esta fase Ib, estudo multicêntrico, de rótulo aberto, é para caracterizar a segurança, tolerabilidade, farmacocinética (PK), farmacodinâmica (DP) e atividade antitumoral do ADC em combinação com o agente secundário, em pacientes com doença A, doença B, e doença C.

[0386] O estudo é composto por uma parte de escalonamento de dose seguida por uma parte da expansão de dose.

[0387] O aumento da dose começará com doses iniciais reduzidas (em comparação com os respectivos níveis recomendados de fase 2 ou dose licenciada), tanto para a ADC quanto para o agente secundário, para garantir a segurança do paciente. As doses iniciais serão de 33% (ou 50%) do RDE para cada composto.

Posteriormente, as doses serão escaladas primeiro para o agente secundário até que o RDE ou a dose licenciada seja atingida ou uma dose mais baixa, se necessário, por razões de tolerabilidade. Em seguida, a dose de ADC será aumentada, até que o RDE para o tratamento combinado seja alcançado. Isso é visualizado no diagrama abaixo:



[0388] Se a combinação de doses for considerada segura, ela pode ser testada em pacientes adicionais para confirmar a segurança e a tolerabilidade nesse nível de dose. Pode ser realizada uma adaptação adicional da dose de cada composto e/ou o regime pode ser modificado.

[0389] A escala da dose da combinação será guiada por um Modelo de Regressão Logística Bayesiana (BLRM) com base em qualquer Toxicidade Limitadora de Dose (DLTs) observada nos primeiros (ou dois primeiros, TBC) ciclos de terapia. O uso de um BLRM é um método bem estabelecido para estimar a dose máxima tolerada (MTD)/dose recomendada para expansão (RDE) em pacientes com câncer. O BLRM adaptável será guiado pelo escalonamento com princípio de controle de superdosagem (EWOC) para controlar o risco de DLT em futuros pacientes do estudo. O uso de modelos adaptativos de resposta bayesiana para pequenos conjuntos de



dados foi aceito pela FDA e EMEA ("Guideline on clinical trials in small populations", February 1, 2007) e endossado por inúmeras publicações (Babb et al. 1998, Neuenschwander et al. 2008).

[0390] As decisões sobre novas combinações de doses são tomadas pelos pesquisadores e pela equipe do estudo patrocinador em uma chamada de segurança de escalonamento de dose (DESC) com base na revisão das informações de tolerabilidade e segurança do paciente (incluindo os resumos de BLRM de risco de DLT, se aplicável), juntamente com informações sobre PK, PD e atividades preliminares disponíveis no momento da decisão.

[0391] Depois que a MTD (s)/RDE é determinada para a combinação, a parte de expansão do estudo pode ser iniciada para avaliar melhor a segurança, tolerabilidade e eficácia preliminar.

■ Para combinações com IO, as alterações no infiltrado imunológico nos tumores além disso será caracterizada após tratamento combinado nas indicações de doença alvo.

[0392] Dada a experiência clínica prévia disponível com os agentes deste estudo, espera-se que na maioria dos casos uma dose combinada possa ser identificada sem testar um grande número de níveis ou programações de doses. Para avaliar a atividade farmacodinâmica das combinações, os pacientes serão solicitados a realizar uma biópsia de tumor na linha de base e novamente após aproximadamente dois ciclos de terapia.

■ Para combinação de IO: A extensão da mudança na infiltração tumoral por células imunes, incluindo linfócitos e macrófagos, contribuirá para uma decisão sobre qualquer benefício potencial.

#### Parte de escalonamento de dose

[0393] Durante a parte de escalonamento de dose do estudo, os pacientes serão tratados com uma dose fixa de ADC administrada i.v. e doses crescentes do

agente secundário até que o RDE do agente secundário seja atingido. Posteriormente, as doses de ADC são aumentadas (em diferentes coortes) enquanto a dose para o agente secundário é mantida constante.

[0394] Dois a aproximadamente 3 ou 4 pacientes com doença A, doença B ou doença C serão tratados em cada coorte do escalonamento até que seja determinada a determinação de MTD(s)/RDE(s).

[0395] Haverá uma observação de 24 horas antes de inscrever o segundo paciente no Nível de Dose 1. O período de observação de DLT em cada nível de dose é de 1 ciclo (3 semanas) ou 2 ciclos (6 semanas), conforme exigido pelas autoridades apropriadas para terapias de IO, após as quais será determinado se o escalonamento para o próximo nível de dose será mantido no nível de dose atual ou diminuído para o nível de dose anterior para a próxima coorte. Não haverá redução de escala do Nível de Dose 1. Não é permitido o aumento da dose entre pacientes.

[0396] O aumento da dose não é permitido, a menos que 2 ou mais pacientes tenham informações completas sobre DLT durante o primeiro ciclo em qualquer nível de dose. O escalonamento de dose será determinado usando um mCRM com uma taxa de DLT alvo de 30% e um intervalo de equivalência de 20% a 35%, e com o escalonamento de dose com controle de superdosagem (EWOC) e sem pular a dose.

[0397] Os pacientes serão designados para uma coorte que está se inscrevendo ativamente. O escalonamento de dose será realizado em cada combinação após a conclusão de um ciclo de tratamento. As avaliações de segurança, incluindo eventos adversos (AEs) e valores laboratoriais, serão monitoradas de perto para todos os pacientes inscritos, a fim de identificar quaisquer DLTs. Uma única MTD/RDE será definida; uma MTD/RDE específica da doença não será estabelecida.

[0398] O mCRM será implementado para DE sob a supervisão de um Comitê Diretor de Escalonamento de Dose (DESC). O DESC confirmará cada nível de dose escalonada após revisar todos os dados de segurança disponíveis. Dados de

farmacocinética de pacientes nesse nível de dose e em níveis de dose anteriores também podem informar a tomada de decisão. O DESC pode interromper o aumento da dose antes da determinação de MTD com base em dados emergentes de PK, PD, toxicidade ou resposta.

[0399] Pacientes adicionais podem ser incluídos em qualquer nível de dose para avaliar melhor a segurança e a tolerabilidade se pelo menos 1 paciente no estudo tiver obtido uma resposta parcial ou melhor, ou se uma avaliação adicional dos dados de PK ou PD for considerada necessária pelo DESC para determinar o RDE.

[0400] O aumento da dose será interrompido após 3 coortes (ou pelo menos 6 pacientes) serem consecutivamente atribuídas ao mesmo nível de dose. Se MTD não for atingida, a dose recomendada para expansão (RDE) será determinada. Antes da determinação de MTD/RDE, um mínimo de 6 pacientes deve ter sido tratado com a combinação.

[0401] Pretende-se que biópsias tumorais emparelhadas sejam obtidas de pacientes durante o aumento da dose. A análise dessas biópsias contribuirá para uma melhor compreensão da relação entre a dose e a atividade farmacodinâmica da combinação.

#### Supervisão de Segurança pela Comitê Diretor de Escalonamento de Dose

[0402] Um DESC composto pela ADC Therapeutics e os pesquisadores analisará a segurança do paciente continuamente durante o DE para determinar se o cronograma de aumento da dose prescrito pelo mCRM justifica a modificação. Além das observações de segurança, os dados de PK e/ou PD também podem informar a tomada de decisão. Doses intermediárias podem ser atribuídas após acordo entre a ADC Therapeutics e os pesquisadores. O DESC pode continuar a supervisionar durante a Parte 2. Nenhum Comitê de Monitoramento de Segurança de Dados (DSMB) formal será usado.

#### Parte de expansão de dose

[0403] Depois que a MTD/RDE for declarada, a parte da expansão da dose poderá começar. O principal objetivo da parte de expansão é avaliar ainda mais a segurança e a tolerabilidade do tratamento do estudo na MTD/RDE e obter uma compreensão preliminar da eficácia da combinação em comparação com os dados históricos de eficácia de um único agente.

[0404] Um objetivo exploratório importante é avaliar as alterações no infiltrado imune no tumor em resposta ao tratamento. Isso será avaliado em biópsias de tumor emparelhadas coletadas de pacientes, com um mínimo de dez pares de biópsias avaliáveis (as amostras de biópsia devem conter tumor suficiente para análise) em pacientes tratados na MTD/RDE. Se isso não for possível, a coleta dessas biópsias pode ser interrompida. Um mínimo de 10 a 20 pacientes está planejado para ser tratado em cada ramo de investigação,

[0405] Vários ramos de investigação diferentes serão abertos, um por doença. Um total de nove ramos de investigação pode ser executado na expansão da dose. Se a inscrição para qualquer um desses grupos não for viável, a inscrição nesse grupo poderá ser encerrada antes que a meta de 10 a 20 pacientes seja atingida.

[0406] Em cada grupo de tratamento, um máximo de aproximadamente seis pacientes que receberam e progrediram na administração única anterior (ou seja, não em combinação) poderá receber tratamento secundário. Esse número pode ser aumentado se uma combinação mostrar promessa de superação de resistência ao tratamento anterior com agente secundário de administração única.

#### População de Pacientes

[0407] O estudo será realizado em pacientes adultos com Doença A, Doença B ou Doença C avançada, conforme descrito acima. O pesquisador ou designado deve garantir que apenas pacientes que atendam a todas as seguintes inclusões e nenhum dos critérios de exclusão recebam tratamento no estudo.

#### Critério de inclusão

[0408] Os pacientes elegíveis para inclusão neste estudo devem atender a todos os seguintes critérios:

1.O consentimento informado por escrito deve ser obtido antes de qualquer procedimento

2.Idade 18 anos.

3.Pacientes com câncer avançado/metastático, com doença mensurável determinada pelo RECIST versão 1.1, que progrediram apesar da terapia padrão ou que são intolerantes à terapia padrão ou para os quais não existe terapia padrão. Os pacientes devem se enquadrar em um dos seguintes grupos:

- Doença A

- Doença B

- Doença C

4.Estado de desempenho de ECOG 0-1 (ou 2 TBC)

5.TBC: O paciente deve ter um local de doença passível de biópsia e ser candidato à biópsia de tumor de acordo com as diretrizes da instituição de tratamento. O paciente deve estar disposto a se submeter a uma nova biópsia do tumor na linha de base e novamente durante a terapia neste estudo.

6.É permitida a terapia prévia com o agente secundário ou compostos relacionados (ou seja, o mesmo MOA)

#### Critério de exclusão

[0409] Os pacientes elegíveis para este estudo não devem atender a nenhum dos seguintes critérios:

1.História de reações graves de hipersensibilidade a outros mAbs (OR para o mesmo mAb de coluna vertebral que no ADC OR para o mesmo mAb IO, se aplicável)

2.História conhecida de ADA humano sérico positivo na coluna vertebral do mAb, como no ADC

3.Apenas doença do Sistema Nervoso Central (CSN) (se aplicável)

4. Metástases sintomáticas do CSN ou evidência de doença leptomeníngea (ressonância magnética cerebral ou citologia do líquido cefalorraquidiano (CSF) previamente documentada)

➤ São permitidas metástases do CSN assintomáticas previamente tratadas, desde que o último tratamento (terapia sistêmica anticâncer e/ou radioterapia local) tenha sido concluído  $\geq 8$  semanas antes de 1º dia da administração, exceto no uso permitido de baixa dose de esteroides em um afunilamento)

➤ Pacientes com metástases durais discretas são elegíveis.

5. Paciente com valores laboratoriais fora da faixa definidos como:

- Creatinina sérica  $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ . Se creatinina sérica  $> 1,5$ , a depuração da creatinina (calculada usando a fórmula de Cockcroft-Gault ou medida) deve ser  $> 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$  para que um paciente seja elegível

- Bilirrubina total  $> 1,5 \times \text{ULN}$ , exceto pacientes com síndrome de Gilbert que são excluídos se bilirrubina total  $> 3,0 \times \text{ULN}$  ou bilirrubina direta  $> 1,5 \times \text{ULN}$

- Alanina aminotransferase (ALT)  $> 3 \times \text{ULN}$ , exceto pacientes com envolvimento hepático do tumor, que são excluídos se ALT  $> 5 \times \text{ULN}$

- Aspartato aminotransferase (AST)  $> 3 \times \text{ULN}$ , exceto pacientes com envolvimento do tumor no fígado, que são excluídos se AST  $> 5 \times \text{ULN}$

- Contagem absoluta de neutrófilos  $< 1,0 \times 10^9/\text{L}$

- Contagem de plaquetas  $< 75 \times 10^9/\text{L}$

- Hemoglobina (Hgb)  $< 8 \text{ g/dL}$

- Anormalidade em potássio, magnésio, cálcio ou fosfato  $> \text{CTCAE grau } 1$ , apesar da terapia de reposição apropriada

6. Função cardíaca comprometida ou doença cardíaca clinicamente significativa, incluindo qualquer um dos seguintes:

- Doença cardíaca clinicamente significativa e/ou não controlada, como insuficiência cardíaca congestiva que requer tratamento (NYHA grau III ou IV) ou

hipertensão não controlada definida por uma pressão arterial sistólica (PAS) de 160 mmHg e/ou pressão arterial diastólica (PAD) de 100 mm Hg, com ou sem medicação anti-hipertensiva.

- QTcF > 470 msec para mulheres ou > 450 msec para homens na triagem de ECG usando a correção de Fridericia, síndrome de QT longo congênita

- Infarto agudo do miocárdio ou angina de peito instável < 3 meses (meses antes da entrada no estudo)

- Doença valvular clinicamente significativa com comprometimento documentado da função cardíaca

- Pericardite sintomática

- História ou cardiomiopatia documentada em andamento

- Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (LVEF) < 40%, conforme determinado por ecocardiograma (ECHO) ou varredura de aquisição múltipla (MUGA)

- História ou presença de arritmias cardíacas clinicamente significativas, por exemplo, arritmias ventriculares, supraventriculares, nodais ou anormalidade de condução (qualificador do TBC: ... exigindo um marcapasso ou não sendo controlada com medicação)

- Presença de fibrilação atrial instável (taxa de resposta ventricular > 100 bpm).

➤NOTA: Pacientes com fibrilação atrial estável podem ser incluídos desde que não atendam a outros critérios de exclusão cardíaca.

- Bloqueio completo do ramo esquerdo (LBBB), bloqueio bifascicular

- Qualquer segmento ST clinicamente significativo e/ou anormalidades da onda T

7.Toxicidade atribuída à terapia IO anterior que levou à descontinuação da terapia. Pacientes tratados adequadamente para erupção cutânea relacionada à fármaco ou com terapia de reposição para endocrinopatias não são excluídos, desde que essas toxicidades não levem à interrupção do tratamento anterior.

8. Pacientes com doença autoimune ativa, conhecida ou suspeita. É permitido o registro de indivíduos com vitiligo, diabetes mellitus tipo I, hipotireoidismo residual devido a condição autoimune que requer apenas reposição hormonal, psoríase que não requer tratamento sistêmico ou condições que não se espera que ocorram na ausência de um fator externo, desde que o fator possa ser evitado.

9. Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) ou infecção ativa pelo vírus da Hepatite B (HBV) ou Hepatite C (HCV)

➤ O teste não é obrigatório ser elegível. O teste para o HCV deve ser considerado se o paciente estiver em risco de ter o HCV não diagnosticado (por exemplo, histórico de uso de fármacos injetáveis).

10. Doença maligna, além da tratada neste estudo. As exceções a essa exclusão incluem o seguinte: doenças malignas que foram tratadas curativamente e não se repetiram nos 2 anos anteriores ao tratamento em estudo; câncer de pele de células escamosas de células basais e completamente ressecadas; qualquer malignidade considerada indolente e que nunca requereu terapia; e carcinoma completamente ressecado *in situ* de qualquer tipo.

11. Terapia anticâncer sistêmica dentro de 2 semanas após a primeira dose do tratamento em estudo. Para agentes citotóxicos com maior toxicidade retardada, por exemplo, mitomicina C e nitrosoureas, 4 semanas são indicadas como período de washout. Para pacientes que recebem imunoterapias anticâncer, como antagonistas de CTLA-4, 6 semanas são indicadas como o período de washout.

12. Diarreia ativa CTCAE grau 2 ou uma condição médica associada à diarreia crônica (como síndrome do intestino irritável, doença inflamatória intestinal)

13. Presença de 2: Toxicidade de CTCAE grau 2 (exceto alopecia, neuropatia periférica e ototoxicidade, que são excluídas se  $\geq$  CTCAE grau 3) devido a terapia prévia contra o câncer.

14. Infecção ativa que requer antibioticoterapia sistêmica.



15. Ulceração ativa do trato GI superior ou sangramento GI
16. Diátese hemorrágica ativa ou medicação oral anti-vitamina K (exceto doses baixas de varfarina e aspirina ou equivalente, desde que o INR  $\leq$  2,0)
17. Doença autoimune ativa, neuropatia motora considerada de origem autoimune e outras doenças autoimunes do CSN
18. Pacientes que necessitam de agentes imunossupressores concomitantes ou tratamento crônico com corticoides, exceto:
  - dose de reposição de esteroides no cenário de insuficiência adrenal
  - esteroides tópicos, inalados, nasais e oftálmicos são permitidos
19. O uso de qualquer vacina viva contra doenças infecciosas (por exemplo, gripe, varicela, pneumococo) dentro de 4 semanas após o início do tratamento do estudo (NB, o uso de vacinas vivas não é permitido durante toda a duração do estudo)
20. Uso de fatores de crescimento estimuladores de colônias hematopoiéticos (por exemplo, G-CSF, GM-CSF, M-CSF) < 2 semanas antes do início do medicamento em estudo. Um agente estimulador eritroide é permitido desde que tenha sido iniciado pelo menos 2 semanas antes da primeira dose do tratamento em estudo.
21. As principais cirurgias dentro de 2 semanas da primeira dose do tratamento em estudo (mediastinoscopia de NB, inserção de um dispositivo de acesso venoso central ou inserção de um tubo de alimentação não são consideradas cirurgias de grande porte).
22. Radioterapia dentro de 2 semanas após a primeira dose do medicamento em estudo, exceto radioterapia paliativa para um campo limitado, como para o tratamento de dores ósseas ou uma massa sintonizadora de focagem dolorosa. Para permitir a avaliação da resposta ao tratamento, os pacientes devem ter uma doença mensurável remanescente que não foi irradiada.
23. Participação em um estudo experimental de intervenção dentro de 2 semanas da primeira dose do tratamento do estudo.

24. Qualquer condição médica que, no julgamento do pesquisador, impeça a participação do paciente no estudo clínico devido a questões de segurança, conformidade com os procedimentos do estudo clínico ou interpretação dos resultados do estudo.

25. Homens sexualmente ativos, a menos que usem preservativo durante a relação sexual enquanto tomam remédio e por 90 dias após a interrupção do tratamento em estudo e não devem ter filhos nesse período. É necessário que o preservativo seja usado também por homens vasectomizados, a fim de impedir a administração do medicamento via fluido seminal.

26. Mulheres grávidas ou lactantes, em que a gravidez é definida como o estado de uma mulher após a concepção e até o término da gestação, confirmada por um teste laboratorial de hCG positivo. Em casos raros de um tumor secretor endócrino, os níveis de hCG podem estar acima dos limites normais, mas sem gravidez no paciente. Nesses casos, deve-se repetir o teste sérico de hCG (com um resultado contínuo) e um ultrassom vaginal/pélvico para descartar a gravidez. Após confirmação dos resultados e discussão com o representante médico, esses pacientes podem entrar no estudo.

27. Mulheres com potencial para engravidar, definidas como todas as mulheres fisiologicamente capazes de engravidar, a menos que estejam usando métodos contraceptivos altamente eficazes durante o tratamento em estudo e por 90 dias após a última dose do tratamento em estudo. Métodos de contracepção altamente eficazes incluem:

- Abstinência total (quando isso está de acordo com o estilo de vida preferido e habitual do paciente. Abstinência periódica (por exemplo, calendário, ovulação, métodos sintotérmicos, pós-ovulação) e abstinência não são métodos contraceptivos aceitáveis
- Esterilização feminina (teve ooforectomia bilateral cirúrgica com ou sem

histerectomia), histerectomia total ou ligadura tubária pelo menos 6 semanas antes de fazer o tratamento do estudo. No caso de ooforectomia isolada, somente quando o estado reprodutivo da mulher tiver sido confirmado pela avaliação do nível hormonal de acompanhamento

- Esterilização masculina (pelo menos 6 meses antes da triagem). Para pacientes do sexo feminino no estudo, o parceiro masculino vasectomizado deve ser o único parceiro desse paciente.

- Uso de métodos hormonais combinados orais (estrogênio e progesterona), injetados ou implantados de contracepção ou colocação de um dispositivo intra-uterino (DIU) ou sistema intra-uterino (IUS) ou outras formas de contracepção hormonal com eficácia comparável (taxa de falha <1%), por exemplo anel vaginal hormonal ou contracepção hormonal transdérmica.

➤ No caso de uso de contraceptivos orais, as mulheres devem permanecer estáveis na mesma pílula por no mínimo 3 meses antes de fazer o tratamento no estudo.

➤ As mulheres são consideradas na pós-menopausa e não têm potencial para engravidar se tiverem 12 meses de amenorréia natural (espontânea) com um perfil clínico apropriado (por exemplo, idade apropriada, histórico de sintomas vasomotores) ou se tiverem ooforectomia cirúrgica bilateral (com ou sem histerectomia) ou ligadura tubária há pelo menos 6 semanas. Somente no caso da ooforectomia, somente quando o estado reprodutivo da mulher foi confirmado pela avaliação do nível hormonal de acompanhamento é considerado não ter potencial para engravidar.

#### Toxicidade limitadora de dose e diretrizes de modificação de dose

[0410] Uma toxicidade de limitação de dose (DLT) é definida como qualquer um dos seguintes eventos que se acredita estarem pelo menos possivelmente relacionados ao ADC por julgamento do pesquisador que ocorre durante o período de avaliação de DLT de 21 dias. A toxicidade que está clara e diretamente relacionada à

doença primária ou a outra etiologia é excluída desta definição.

Definições de DLT

Uma DLT hematológica é definida como:

- Neutropenia febril de grau 3 ou 4 ou infecção neutropênica
- Neutropenia de grau 4 com duração > 7 dias
- Trombocitopenia grau 4
- Trombocitopenia de grau 3 com sangramento clinicamente significativo ou

trombocitopenia de grau 3 que requer transfusão de plaquetas

- Anemia de grau 3 que requer transfusão
- Anemia de grau 4

Uma DLT não hematológica é definida como:

- Toxicidade não hematológica de grau 4
- Toxicidade não hematológica de grau 3 com duração > 3 dias, apesar dos

cuidados de suporte ideais ou intervenção médica

▪ Um caso da lei de Hy (AST e/ou ALT > 3x ULN e bilirrubina > 2x ULN, e sem achados iniciais de colestase (atividade da fosfatase alcalina sérica (ALP) < 2x ULN) e nenhum outro motivo que possa explicar a combinação de transaminases aumentadas e bilirrubina total sérica, como hepatite viral A, B ou C, doença hepática pré-existente ou aguda ou outro medicamento capaz de causar a lesão observada)

▪ Reação relacionada à hipersensibilidade/infusão de grau 3 ou superior (independentemente da pré-medicação). Uma reação relacionada à hipersensibilidade/infusão de grau 3 que se resolve dentro de 8 horas após o início com tratamento clínico apropriado não se qualifica como DLT.

- LVEF diminui para <40% ou > 20% da linha de base

▪ Síndrome de lise tumoral de grau 4 (TLS de grau 3 não constituirá DLT, a menos que leve a danos irreversíveis em órgãos de extremidade)

[0411] As seguintes condições não são consideradas DLT não hematológicas:

- Fadiga grau 3 por  $\leq 7$  dias

- Diarreia, náusea ou vômito de Grau 3, na ausência de pré-medicação, que responda à terapia e melhore em pelo menos 1 grau em 3 dias para eventos de Grau 3 ou  $\leq$  Grau 1 em 7 dias.

- Elevação de AST ou ALT  $\geq 5 \times$  ULN, mas  $\leq 8 \times$  ULN, sem elevação simultânea da bilirrubina, que diminui para  $\leq$  Grau 2 dentro de 5 dias após o início.

- Lipase sérica de grau 3 ou amilase sérica por  $\leq 7$  dias se não houver sinais ou sintomas clínicos de pancreatite

[0412] Os pacientes que experimentam uma DLT que resolve ou se estabiliza com o tratamento médico apropriado podem continuar o tratamento a critério do pesquisador, em consulta com o patrocinador.

#### Modificações de dose

[0413] As diretrizes para o gerenciamento de toxicidades específicas estão detalhadas na tabela abaixo. Para o gerenciamento de eventos não especificados nas tabelas, o seguinte pode servir como orientação aos pesquisadores:

Grau de AE	Diretriz de Gerenciamento de ADC
1	Não é necessário ajuste da dose.
2	<p><u>Primeira ocorrência:</u> Considere manter um ou ambos os fármacos até melhorar para <math>\leq</math> Grau 1 ou de linha de base. Até 1 dose de um ou de ambos os fármacos pode ser pulada para permitir melhorias. Se ocorrer uma melhora no <math>\leq</math> Grau 1 ou na linha de base dentro de 21 dias a partir da última dose programada (mas perdida) de um ou ambos os fármacos, continue um ou ambos os fármacos no nível de dose original designado nos ciclos de tratamento subsequentes. Se a melhora do <math>\leq</math> Grau 1 ou da linha de base não ocorrer dentro de 21 dias a partir da última dose programada (mas perdida), interrompa permanentemente um ou ambos os fármacos.</p> <p><u>Segunda ocorrência:</u> Mantenha um ou ambos os fármacos até melhorar para <math>\leq</math> Grau 1 ou de linha de base. Até 1 dose de um ou dos dois fármacos pode ser pulada para permitir a resolução. Se ocorrer uma melhora no <math>\leq</math> Grau 1 ou na linha de base dentro de 21 dias a partir da última dose programada</p>

	(mas perdida), continue um ou ambos os fármacos com 1 nível de dose abaixo da dose atribuída original nos ciclos de tratamento subsequentes. Se a melhora do $\leq$ Grau 1 ou da linha de base não ocorrer dentro de 21 dias a partir da última dose programada (mas perdida), interrompa permanentemente um ou ambos os fármacos.  <u>Terceira ocorrência:</u> Interrompa permanentemente um ou ambos os fármacos.
3	<u>Primeira ocorrência:</u> Mantenha um ou ambos os fármacos até melhorar para $\leq$ Grau 1 ou de linha de base. Até 1 dose de um ou de ambos os fármacos pode ser pulada para permitir melhora e, em seguida, continue com 1 nível de dose abaixo da dose original atribuída nos ciclos de tratamento subsequentes.  <u>Segunda ocorrência:</u> Interrompa permanentemente um ou ambos os fármacos
4	Interrompa permanentemente um ou ambos os fármacos.

#### Exemplo 4: Sinergia *in vitro* de ADCx19 e Rituximab

##### Material e Métodos

[0414] As células de Ramos foram cultivadas com RPMI 1640 suplementado com 10% de FBS Hyclone. A concentração e a viabilidade das células de um frasco de T75 subconfluyente (80-90% de confluência) foram medidas por coloração com azul de tripano e contadas usando o contador de células automático LUNA-II™. As células foram diluídas para  $2 \times 10^5/\text{ml}$ , dispensadas (50  $\mu\text{l}$ /poço) em placas de fundo plano de 96 poços. Um tabuleiro foi montado combinando diluições de 10 vezes de ADCTx19 ou ADCTx22 e diluições de 10 vezes de rituximab em RPMI antes que 50  $\mu\text{l}$  de cada diluição fossem transferidos para a placa de 96 poços contendo as células. Esta placa foi incubada a 37°C em uma incubadora com gás de CO<sub>2</sub> por 4 dias. No final do período de incubação, a viabilidade celular foi medida por ensaio MTS. O MTS (Promega) foi dispensado (20  $\mu\text{l}$  por poço) em cada poço e incubado durante 4 horas a 37°C na incubadora com gás CO<sub>2</sub>. A absorbância do poço foi medida a 490 nm. IC<sub>50</sub> foi determinado a partir dos dados de resposta à dose usando o GraphPad Prism usando o algoritmo de ajuste de curva não linear: curva sigmoidal de dose-resposta com inclinação variável.

### Resultados

[0415] Os resultados do ensaio de citotoxicidade *in vitro* são mostrados na tabela abaixo e na Figura 2.

Agentes adicionados	EC50
ADCx19	0,0002394
Rituximab	0,56
ADCx19 + 2nM de Rituximab	0,000005472
ADCx22	0,01331
ADCx22 + 2nM de Rituximab	0,006576

### Discussão

[0416] Quando o ADCx19 é combinado com o Rituximab, a potência é aumentada em pelo menos 10 vezes e a molécula se torna extremamente potente. O rituximab por si só não teve efeito citotóxico significativo.

[0417] O mesmo efeito não é observado quando o rituximab é administrado em conjunto com o ADCx22, apesar das células Ramos expressarem quantidades significativas de antígenos CD19 e CD22.

Exemplo 5: Sinergia *in vitro* de ADCx19 e Citarabina

### Material e Métodos

[0418] As células foram plaqueadas no dia 1 a 10.000 células/poço em placas de 96 poços, três repetições por experimento e um total de 3. O medicamento combinado foi adicionado no dia 2 e incubado por 24 horas a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>.

[0419] No dia 3, o ADCx19 foi adicionado a células contendo fármaco, ou meio apenas como controle, na faixa de dosagem 0,00004 pM - 50 nM a uma diluição de 20 vezes e incubada por mais 4 dias (tempo de duplicação de 3 x células).

[0420] 20µl MTS foi adicionado a cada poço e incubado por 2-3 horas em condições normais de cultura de células. A OD foi medida a 492 nm, utilizando um leitor de placas Thermo Labsystems Multiscan Ascent, e % de crescimento calculado em comparação com as células de controle não tratadas.

[0421] As curvas de crescimento foram plotadas usando o GraphPad Prism usando a equação sigmoidal, 4PL, X é log (concentração). Os valores de IC<sub>50</sub> (dose

do medicamento que inibe o crescimento em 50%) foram determinados. A porcentagem de sobrevivência celular foi convertida na fração afetada (Fa) e o índice de combinação (CI) para cada dose calculada usando o CalcuSyn v2.11.

### Resultados

[0422] Os resultados são mostrados na Tabela 3. Conforme indicado na legenda da figura, (\*) indica sinergismo moderado e (\*\*) sinergismo forte, conforme determinado por CalcuSyn.

Exemplo 6: Sinergia *in vitro* de ADCx22/Citarabina e ADCx22/Fludarabina

### Material e Métodos

[0423] As células foram plaqueadas no dia 1 a 10.000 células/poço em placas de 96 poços, três repetições por experimento e um total de 3. O fármaco combinado (por exemplo, citarabina ou fludarabina) foi adicionado no dia 2 e incubado por 24 horas a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>.

[0424] No dia 3, o ADCx22 foi adicionado a células contendo fármaco, ou meio apenas como controle, na faixa de dosagem 0,005 pM - 50 nM a uma diluição de 10 vezes e incubada por mais 4 dias (tempo de duplicação de 3 x células).

[0425] 20µl MTS foi adicionado a cada poço e incubado por 2-3 horas em condições normais de cultura de células. A OD foi medida a 492 nm, utilizando um leitor de placas Thermo Labsystems Multiscan Ascent, e % de crescimento calculado em comparação com as células de controle não tratadas.

[0426] As curvas de crescimento foram plotadas usando o GraphPad Prism usando a equação sigmoidal, 4PL, X é log (concentração). Os valores de IC<sub>50</sub> (dose do medicamento que inibe o crescimento em 50%) foram determinados. A porcentagem de sobrevivência celular foi convertida na fração afetada (Fa) e o índice de combinação (CI) para cada dose calculada usando o CalcuSyn v2.11.

### Resultados

[0427] Os resultados são mostrados na Tabela 4. Conforme indicado na



legenda da figura, (\*) indica sinergismo moderado e (\*\*) sinergismo forte, conforme determinado por CalcuSyn.

Exemplo 7: Sinergia *in vivo* de ADCx19/Citarabina e ADCx19/Rituximab

#### Material e Métodos

[0428] Camundongos imunodeficientes combinados severos fêmeas (Fox Chase SCID®, CB17/lcr-Prkdcscid/lcrIcoCrl, Charles River) que tinham oito semanas de idade com uma faixa de peso corporal (PC) de 14,6 a 21,9 g foram selecionados no dia 1 do estudo.

[0429] No dia do implante do tumor, cada camundongo de teste recebeu  $1 \times 10^7$  células tumorais WSU-DLCL2 em Matrigel a 50% implantado por via subcutânea no flanco direito. O crescimento do tumor foi monitorado quando o tamanho médio se aproximou da faixa alvo de 100 a 150 mm<sup>3</sup>. Os tumores foram medidos em duas dimensões usando pinças e o volume calculado pela fórmula:

$$\text{Volume do tumor (mm}^3\text{)} = w^2 \times l/2$$

onde w = largura e l = comprimento, em mm, do tumor. O peso do tumor pode ser estimado assumindo que 1 mg é equivalente a 1 mm<sup>3</sup> do volume do tumor.

[0430] Quatorze dias após a implantação do tumor, designado como dia 1 do estudo, os animais foram classificados em nove grupos (n = 8) com volumes individuais de tumor de 10<sup>8</sup> a 126 mm<sup>3</sup> e volumes médios de tumor de 112,5 mm<sup>3</sup>.

[0431] No dia 1 do estudo, o ADCx19 foi administrado por via intravenosa (i.v.) em uma única injeção (qd x 1) por injeção na veia da cauda; o rituximab foi administrado i.v. uma vez por semana, durante 4 semanas; citarabina foi administrada intraperitonealmente diariamente por 5 dias. Todas as doses foram administradas em um volume de dosagem de 10 mL/kg.

[0432] Os tumores foram medidos com pinças duas vezes por semana, e cada animal foi sacrificado quando o tumor atingiu o volume final de 1000 mm<sup>3</sup> ou no final do estudo, o que ocorrer primeiro. O estudo terminou no dia 74.

### Resultados

[0433] Os resultados são mostrados na Tabela 5.

[0434] Uma dose única de ADCx19 a 1 mg/kg foi selecionada com base em dados históricos com a intenção de que essa dose seria subideal e, portanto, permitisse a máxima sensibilidade do ensaio à sinergia com os agentes secundários. No entanto, nesta rodada inicial de experimentos *in vivo*, a dose de 1 mg/kg de ADCx19 foi mais eficaz do que o previsto, deixando espaço reduzido para o registro de sinergia.

[0435] Não obstante, os dados de ADCx19/citarabina (Figura 5A) são consistentes com sinergia *in vivo*. Da mesma forma, os dados de ADCx19/rituximab (Figura 5B) são consistentes com a sinergia *in vivo*. [O crescimento aparente no tamanho médio do tumor ADCx19/rituximab mostrado na Figura 5B decorre da média, incluindo um único outlier onde foi observado um crescimento significativo do tumor. Isso pode ser visto claramente nos dados de grupo único mostrados na Figura 5C.]

Exemplo 8: Sinergia *in vitro* na linhagem celular de CD19+ve Ramos de ADCx19 com cada uma dentre Citarabina, Fludarabina, Decitabina e Gencitabina

[0436] As células foram plaqueadas no dia 1 a 10.000 células/poço em placas de 96 poços, três repetições por experimento e um total de 3. O medicamento combinado foi adicionado no dia 2 e incubado por 24 horas a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>.

[0437] No dia 3, o ADCx19 foi adicionado a células contendo fármaco, ou meio apenas como controle, na faixa de dosagem 0,00004 pM - 50 nM a uma diluição de 20 vezes e incubada por mais 4 dias (tempo de duplicação de 3 x células).

[0438] 20µl MTS foi adicionado a cada poço e incubado por 2-3 horas em condições normais de cultura de células. A OD foi medida a 492 nm, utilizando um leitor de placas Thermo Labsystems Multiscan Ascent, e % de crescimento calculado em comparação com as células de controle não tratadas.

[0439] As curvas de crescimento foram plotadas usando o GraphPad Prism

usando a equação sigmoidal, 4PL, X é log (concentração). Os valores de IC50 (dose do medicamento que inibe o crescimento em 50%) foram determinados. A porcentagem de sobrevivência celular foi convertida na fração afetada (Fa) e o índice de combinação (CI) para cada dose calculada usando o CalcuSyn v2.11.

[0440] Os resultados são mostrados nas Figuras 6A (Citarabina), 6B (Decitabina), 6C (Gencitabina) e 6D (Fludarabina), onde \* indica sinergismo moderado e \*\* sinergismo forte, conforme determinado por CalcuSyn.

Exemplo 9: Sinergia *in vitro* na linhagem celular de CD22+ve Ramos de ADCx22 com cada uma dentre Citarabina, Fludarabina, Decitabina e Gencitabina

[0441] As células foram plaqueadas no dia 1 a 10.000 células/poço em placas de 96 poços, três repetições por experimento e um total de 3. O medicamento combinado foi adicionado no dia 2 e incubado por 24 horas a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>.

[0442] No dia 3, o ADCx22 foi adicionado a células contendo fármaco, ou meio apenas como controle, na faixa de dosagem 0,005 pM - 50 nM a uma diluição de 10 vezes e incubada por mais 4 dias (tempo de duplicação de 3 x células).

[0443] 20µl MTS foi adicionado a cada poço e incubado por 2-3 horas em condições normais de cultura de células. A OD foi medida a 492 nm, utilizando um leitor de placas Thermo Labsystems Multiscan Ascent, e % de crescimento calculado em comparação com as células de controle não tratadas.

[0444] As curvas de crescimento foram plotadas usando o GraphPad Prism usando a equação sigmoidal, 4PL, X é log (concentração). Os valores de IC50 (dose do medicamento que inibe o crescimento em 50%) foram determinados. A porcentagem de sobrevivência celular foi convertida na fração afetada (Fa) e o índice de combinação (CI) para cada dose calculada usando o CalcuSyn v2.11.

[0445] Os resultados são mostrados nas Figuras 7A (Citarabina), 7B (Decitabina), 7C (Gencitabina) e 7D (Fludarabina), onde \* indica sinergismo moderado e \*\* sinergismo forte, conforme determinado por CalcuSyn.

EXEMPLO 10: sinergia contra células neoplásicas CD19+ ve entre ADCx19 e cada um dentre agentes secundários de Imuno-oncologia (I/O), antagonistas de PD1, antagonistas de PDL1, antagonistas de CTLA4, agonistas de OX40 e agonistas de GITR.

#### Antagonistas de PD1

[0446] Para testar se um ADC baseado em PBD contra CD19 combinado com um antagonista de PD1 mostra efeito aditivo ou sinérgico, a combinação é testada *in vivo* em um modelo de tumor singênico em camundongos imunocompetentes (para CD19, modelos potencialmente adequados incluem A20, E.G7-OVA, EL4, C1498, L1210, P388). Para este fim, um anticorpo reativo cruzado com CD19 de camundongo é conjugado com uma ogiva de PBD e este ADC é administrado com o antagonista de PD1 a camundongos enxertados com uma linhagem de células tumorais de camundongo que expressa CD19. O ADC é administrado antes do antagonista de PD1, concomitantemente com o antagonista de PD1, ou após o antagonista de PD1, conforme decidido pelo pesquisador.

[0447] Tipicamente, o ADC é administrado como uma dose única entre 0,1 e 1 mg/kg, enquanto o antagonista de PD1 é administrado Q3d x 3 em doses entre 1 e 10 mg/kg. Os grupos de controle incluem apenas o antagonista de ADC ou PD1. Os volumes de tumor e o peso corporal são subsequentemente medidos até 60 dias para todos os grupos e o número de camundongos TFS sobreviventes livres de tumor que respondem parcialmente (RP), e completamente (RC) é determinado em cada grupo.

[0448] A análise estatística (tipicamente um teste log-rank) é realizada para determinar se os camundongos tratados com a combinação superaram os camundongos tratados apenas com o antagonista de ADC ou PD1.

#### Antagonistas de PDL1

[0449] Para testar se um ADC baseado em PBD contra CD19 combinado com um antagonista de PDL1 mostra efeito aditivo ou sinérgico, a combinação é testada *in*

*vivo* em um modelo de tumor singênico em camundongos imunocompetentes. Para este fim, um anticorpo reativo cruzado com CD19 de camundongo é conjugado com uma ogiva de PBD e este ADC é administrado com o antagonista de PDL1 a camundongos enxertados com uma linhagem de células tumorais de camundongo que expressa CD19. O ADC é administrado antes do antagonista de PDL1, concomitantemente com o antagonista de PDL1, ou após o antagonista de PDL1, conforme decidido pelo pesquisador.

[0450] Tipicamente, o ADC é administrado como uma dose única entre 0,1 e 1 mg/kg, enquanto o antagonista de PD1 é administrado Q3d x 3 em doses entre 1 e 10 mg/kg. Os grupos de controle incluem apenas o antagonista de ADC ou PDL1. Os volumes de tumor e o peso corporal são subsequentemente medidos até 60 dias para todos os grupos e o número de camundongos TFS sobreviventes livres de tumor que respondem parcialmente (RP), e completamente (RC) é determinado em cada grupo.

[0451] A análise estatística (tipicamente um teste log-rank) é realizada para determinar se os camundongos tratados com a combinação superaram os camundongos tratados apenas com o antagonista de ADC ou PDL1.

#### Antagonistas de CTLA4

[0452] Para testar se um ADC baseado em PBD contra CD19 combinado com um antagonista de CTLA4 mostra efeito aditivo ou sinérgico, a combinação é testada *in vivo* em um modelo de tumor singênico em camundongos imunocompetentes. Para este fim, um anticorpo reativo cruzado com CD19 de camundongo é conjugado com uma ogiva de PBD e este ADC é administrado com o antagonista de CTLA4 a camundongos enxertados com uma linhagem de células tumorais de camundongo que expressa CD19. O ADC é administrado antes do antagonista de CTLA4, concomitantemente com o antagonista de CTLA4, ou após o antagonista de CTLA4, conforme decidido pelo pesquisador.

[0453] Tipicamente, o ADC é administrado como uma dose única entre 0,1 e

1 mg/kg, enquanto o antagonista de CTLA4 é administrado Q3d x 3 em doses entre 1 e 10 mg/kg. Os grupos de controle incluem apenas o antagonista de ADC ou CTLA4. Os volumes de tumor e o peso corporal são subsequentemente medidos até 60 dias para todos os grupos e o número de camundongos TFS sobreviventes livres de tumor que respondem parcialmente (RP), e completamente (RC) é determinado em cada grupo.

[0454] A análise estatística (tipicamente um teste log-rank) é realizada para determinar se os camundongos tratados com a combinação superaram os camundongos tratados apenas com o antagonista de ADC ou CTLA4.

#### Agonistas de OX40

[0455] Para testar se um ADC baseado em PBD contra CD19 combinado com um agonista de OX40 mostra efeito aditivo ou sinérgico, a combinação é testada *in vivo* em um modelo de tumor singênico em camundongos imunocompetentes, ou para este fim, um anticorpo reativo cruzado com CD19 de camundongo é conjugado com uma ogiva de PBD e esse ADC é administrado com o agonista de OX40 a camundongos enxertados com uma linhagem de células tumorais de camundongo que expressa CD19. O ADC é administrado antes do agonista de OX40, concomitantemente com o agonista de OX40, ou após o agonista de OX40, conforme decidido pelo pesquisador.

[0456] Tipicamente, o ADC é administrado como uma dose única entre 0,1 e 1 mg/kg, enquanto o agonista de OX40 é administrado Q3d x 3 em doses entre 1 e 10 mg/kg. Os grupos de controle incluem apenas o agonista de ADC ou OX40. Os volumes de tumor e o peso corporal são subsequentemente medidos até 60 dias para todos os grupos e o número de camundongos TFS sobreviventes livres de tumor que respondem parcialmente (RP), e completamente (RC) é determinado em cada grupo.

[0457] A análise estatística (tipicamente um teste log-rank) é realizada para determinar se os camundongos tratados com a combinação superaram os

camundongos tratados apenas com o agonista de ADC ou OX40.

#### Agonistas de GITR

[0458] Para testar se um ADC baseado em PBD contra CD19 combinado com um agonista de GITR mostra efeito aditivo ou sinérgico, a combinação é testada *in vivo* em um modelo de tumor singênico em camundongos imunocompetentes. Para este fim, um anticorpo reativo cruzado com CD19 de camundongo é conjugado com uma ogiva de PBD e este ADC é administrado com o agonista de GITR a camundongos enxertados com uma linha de células tumorais de camundongo que expressa CD19. O ADC é administrado antes do agonista de GITR, concomitantemente com o agonista do GITR, ou após o agonista do GITR, conforme decidido pelo pesquisador.

[0459] Tipicamente, o ADC é administrado como uma dose única entre 0,1 e 1 mg/kg, enquanto o agonista de GITR é administrado Q3d x 3 em doses entre 1 e 10 mg/kg. Os grupos de controle incluem apenas o agonista de ADC ou GITR. Os volumes de tumor e o peso corporal são subsequentemente medidos até 60 dias para todos os grupos e o número de camundongos TFS sobreviventes livres de tumor que respondem parcialmente (RP), e completamente (RC) é determinado em cada grupo.

[0460] A análise estatística (tipicamente um teste log-rank) é realizada para determinar se os camundongos tratados com a combinação superaram os camundongos tratados apenas com o agonista de ADC ou GITR.

EXEMPLO 11: sinergia contra células neoplásicas CD22+ ve entre ADCx22 e cada um dentre agentes secundários de Imuno-oncologia (I/O), antagonistas de PD1, antagonistas de PDL1, antagonistas de CTLA4, agonistas de OX40 e agonistas de GITR.

#### Antagonistas de PD1

[0461] Para testar se um ADC baseado em PBD contra CD22 combinado com um antagonista de PD1 mostra efeito aditivo ou sinérgico, a combinação é testada *in*

*vivo* em um modelo de tumor singênico em camundongos imunocompetentes (para CD22, modelos potencialmente adequados incluem A20, E.G7-OVA, EL4, C1498, L1210, P388). Para este fim, um anticorpo reativo cruzado com CD22 de camundongo é conjugado com uma ogiva de PBD e este ADC é administrado com o antagonista de PD1 a camundongos enxertados com uma linhagem de células tumorais de camundongo que expressa CD22. O ADC é administrado antes do antagonista de PD1, concomitantemente com o antagonista de PD1, ou após o antagonista de PD1, conforme decidido pelo pesquisador.

[0462] Tipicamente, o ADC é administrado como uma dose única entre 0,1 e 1 mg/kg, enquanto o antagonista de PD1 é administrado Q3d x 3 em doses entre 1 e 10 mg/kg. Os grupos de controle incluem apenas o antagonista de ADC ou PD1. Os volumes de tumor e o peso corporal são subsequentemente medidos até 60 dias para todos os grupos e o número de camundongos TFS sobreviventes livres de tumor que respondem parcialmente (RP), e completamente (RC) é determinado em cada grupo.

[0463] A análise estatística (tipicamente um teste log-rank) é realizada para determinar se os camundongos tratados com a combinação superaram os camundongos tratados apenas com o antagonista de ADC ou PD1.

#### Antagonistas de PDL1

[0464] Para testar se um ADC baseado em PBD contra CD22 combinado com um antagonista de PDL1 mostra efeito aditivo ou sinérgico, a combinação é testada *in vivo* em um modelo de tumor singênico em camundongos imunocompetentes. Para este fim, um anticorpo reativo cruzado com CD22 de camundongo é conjugado com uma ogiva de PBD e este ADC é administrado com o antagonista de PDL1 a camundongos enxertados com uma linhagem de células tumorais de camundongo que expressa CD22. O ADC é administrado antes do antagonista de PDL1, concomitantemente com o antagonista de PDL1, ou após o antagonista de PDL1, conforme decidido pelo pesquisador.



[0465] Tipicamente, o ADC é administrado como uma dose única entre 0,1 e 1 mg/kg, enquanto o antagonista de PD1 é administrado Q3d x 3 em doses entre 1 e 10 mg/kg. Os grupos de controle incluem apenas o antagonista de ADC ou PDL1. Os volumes de tumor e o peso corporal são subsequentemente medidos até 60 dias para todos os grupos e o número de camundongos TFS sobreviventes livres de tumor que respondem parcialmente (RP), e completamente (RC) é determinado em cada grupo.

[0466] A análise estatística (tipicamente um teste log-rank) é realizada para determinar se os camundongos tratados com a combinação superaram os camundongos tratados apenas com o antagonista de ADC ou PDL1.

#### Antagonistas de CTLA4

[0467] Para testar se um ADC baseado em PBD contra CD22 combinado com um antagonista de CTLA4 mostra efeito aditivo ou sinérgico, a combinação é testada *in vivo* em um modelo de tumor singênico em camundongos imunocompetentes. Para este fim, um anticorpo reativo cruzado com CD22 de camundongo é conjugado com uma ogiva de PBD e este ADC é administrado com o antagonista de CTLA4 a camundongos enxertados com uma linhagem de células tumorais de camundongo que expressa CD22. O ADC é administrado antes do antagonista de CTLA4, concomitantemente com o antagonista de CTLA4, ou após o antagonista de CTLA4, conforme decidido pelo pesquisador.

[0468] Tipicamente, o ADC é administrado como uma dose única entre 0,1 e 1 mg/kg, enquanto o antagonista de CLTA4 é administrado Q3d x 3 em doses entre 1 e 10 mg/kg. Os grupos de controle incluem apenas o antagonista de ADC ou CTLA4. Os volumes de tumor e o peso corporal são subsequentemente medidos até 60 dias para todos os grupos e o número de camundongos TFS sobreviventes livres de tumor que respondem parcialmente (RP), e completamente (RC) é determinado em cada grupo.

[0469] A análise estatística (tipicamente um teste log-rank) é realizada para

determinar se os camundongos tratados com a combinação superaram os camundongos tratados apenas com o antagonista de ADC ou CTLA4.

#### Agonistas de OX40

[0470] Para testar se um ADC baseado em PBD contra CD22 combinado com um agonista de OX40 mostra efeito aditivo ou sinérgico, a combinação é testada *in vivo* em um modelo de tumor singênico em camundongos imunocompetentes, ou para este fim, um anticorpo reativo cruzado com CD22 de camundongo é conjugado com uma ogiva de PBD e esse ADC é administrado com o agonista de OX40 a camundongos enxertados com uma linhagem de células tumorais de camundongo que expressa CD22. O ADC é administrado antes do agonista de OX40, concomitantemente com o agonista de OX40, ou após o agonista de OX40, conforme decidido pelo pesquisador.

[0471] Tipicamente, o ADC é administrado como uma dose única entre 0,1 e 1 mg/kg, enquanto o agonista de OX40 é administrado Q3d x 3 em doses entre 1 e 10 mg/kg. Os grupos de controle incluem apenas o agonista de ADC ou OX40. Os volumes de tumor e o peso corporal são subsequentemente medidos até 60 dias para todos os grupos e o número de camundongos TFS sobreviventes livres de tumor que respondem parcialmente (RP), e completamente (RC) é determinado em cada grupo.

[0472] A análise estatística (tipicamente um teste log-rank) é realizada para determinar se os camundongos tratados com a combinação superaram os camundongos tratados apenas com o agonista de ADC ou OX40.

#### Agonistas de GITR

[0473] Para testar se um ADC baseado em PBD contra CD22 combinado com um agonista de GITR mostra efeito aditivo ou sinérgico, a combinação é testada *in vivo* em um modelo de tumor singênico em camundongos imunocompetentes. Para este fim, um anticorpo reativo cruzado com CD22 de camundongo é conjugado com uma ogiva de PBD e este ADC é administrado com o agonista de GITR a

camundongos enxertados com uma linha de células tumorais de camundongo que expressa CD22. O ADC é administrado antes do agonista de GITR, concomitantemente com o agonista do GITR, ou após o agonista do GITR, conforme decidido pelo pesquisador.

[0474] Tipicamente, o ADC é administrado como uma dose única entre 0,1 e 1 mg/kg, enquanto o agonista de GITR é administrado Q3d x 3 em doses entre 1 e 10 mg/kg. Os grupos de controle incluem apenas o agonista de ADC ou GITR. Os volumes de tumor e o peso corporal são subsequentemente medidos até 60 dias para todos os grupos e o número de camundongos TFS sobreviventes livres de tumor que respondem parcialmente (RP), e completamente (RC) é determinado em cada grupo.

[0475] A análise estatística (tipicamente um teste log-rank) é realizada para determinar se os camundongos tratados com a combinação superaram os camundongos tratados apenas com o agonista de ADC ou GITR.

### REIVINDICAÇÕES

1. Método de seleção um indivíduo como adequado para o tratamento com ADCx19 ou ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo tiver sido tratado com um agente anti-CD20.

2. Método de seleção de um indivíduo como adequado para o tratamento com ADCx19 ou ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo estiver sendo tratado com um agente anti-CD20.

3. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo é selecionado para tratamento se o indivíduo for refratário ao tratamento, ou tratamento adicional, com um agente anti-CD20.

4. Método de tratamento de um distúrbio em um indivíduo, o método **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

(i) selecionar um indivíduo como adequado para tratamento por um método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3; e

(ii) administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de ADCx19 ou ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda a administração de um agente anti-CD20 em combinação com ADCx19 ou ADCx22, opcionalmente em combinação adicional com um agente secundário.

6. Método de tratamento de um distúrbio em um indivíduo, o método **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz de:

ADCx19 ou ADCx22; e

um agente secundário;

opcionalmente em combinação adicional com um agente anti-CD20.

7.Método, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo é selecionado para tratamento de acordo com um método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3.

8.Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 7, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o tratamento compreende a administração de ADCx19 ou ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, antes de um agente anti-CD20, simultaneamente com um agente anti-CD20 ou após um agente anti-CD20.

9.Método, de acordo com qualquer reivindicação anterior, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o tratamento compreende ainda a administração de um agente quimioterapêutico.

10.Método, de acordo com qualquer reivindicação anterior, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo é humano.

11.Método, de acordo com qualquer reivindicação anterior, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo tem um distúrbio ou foi determinado como tendo um distúrbio.

12.Método, de acordo com a reivindicação 11, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo tem ou foi determinado como tendo:

(i) um câncer que expressa células não tumorais associadas a tumores CD19 ou CD19+, tais como células infiltrantes de CD19+; ou

(ii) um câncer que expressa células não tumorais associadas a tumores CD22 ou CD22+, como células infiltrantes de CD22+

13.Método, de acordo com qualquer reivindicação anterior, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo está em tratamento com um agente anti-CD20.

14.Método, de acordo com qualquer reivindicação anterior, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo foi tratado com um agente anti-CD20.

15.Método, de acordo com qualquer reivindicação anterior, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo é refratário ao tratamento, ou tratamento adicional, com um agente anti-CD20.

16.Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o tratamento aumentou a eficácia em comparação à monoterapia com ADCx19 ou ADCx22, um agente secundário ou um agente anti-CD20 sozinho, ou combinações de ADCx19 ou ADCx22/Citarabina, ADCx19 ou ADCx22/Fludarabina, ADCx19 ou ADCx22/um agente anti-CD20, Citarabine/um agente anti-CD20 ou Fludarabina/um agente anti-CD20.

17.Método, de acordo com qualquer reivindicação anterior, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o distúrbio é uma doença proliferativa.

18.Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o distúrbio é câncer.

19.Método, de acordo com a reivindicação 18, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o distúrbio é selecionado do grupo que compreende: linfoma não-Hodgkin, incluindo linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular, (FL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma linfático crônico (CLL) e linfoma de células B da Zona Marginal (MZBL) e leucemias como leucemia de células pilosas (HCL), variante de leucemia de células pilosas (HCL-v) e leucemia linfoblástica aguda (ALL), como ALL positiva para cromossomo Filadélfia (Ph+ALL) ou ALL negativa para cromossomo Filadélfia (Ph-ALL).

20.Método, de acordo com a reivindicação 18, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o distúrbio é caracterizado pela presença de um ou mais tumores sólidos.

21.Método, de acordo com a reivindicação 20, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o tumor sólido é câncer de pâncreas, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico e esofágico, leucemia e linfoma, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renais ou câncer de cabeça e pescoço.

22.ADCx19 ou ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 a 21.

23.Composição, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende ADCx19 ou ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 a 21.

24. Agente anti-CD20, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 21.

25.Composição, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende um agente anti-CD20, para uso em um método de tratamento de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 21.

26.Uso de ADCx19 ou ADCx22, opcionalmente em combinação com um agente secundário, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende o método de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 a 21.

27.Uso de um agente anti-CD20, **CARACTERIZADO** pelo fato de que na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio em um indivíduo, em que o tratamento compreende o método de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 21.

28.Kit, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

um primeiro medicamento compreendendo ADCx19 ou ADCx22;

opcionalmente, um segundo medicamento compreendendo um agente secundário;

uma bula que compreende instruções para administração do primeiro medicamento de acordo com o método de acordo com qualquer um ou parágrafos 4 a 21.

29.Kit, de acordo com a reivindicação 28, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda:

um terceiro medicamento compreendendo um agente anti-CD20.

30.Composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, **CARACTERIZADA(O)** pelo fato de que o agente secundário é a Citarabina.

31.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente secundário é Fludarabina.

32.Composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente secundário é um inibidor de Tirosina Quinase de Bruton (BTKi).

33.Composição, método, uso ou kit de acordo com a reivindicação 32, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o inibidor da tirosina quinase de Bruton (BTKi) é selecionado dentre Ibrutinib (Imbruvica), Acalabrutinib/ACP-196, ONO/GS-4059, Spebrutinib/AVL-292/CC-292, HM71224 (Poseltinib) e BGB-3111 (Zanubrutinib)

34.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente secundário é um antagonista de PD1.



35.Composição, método, uso ou kit, de acordo com a reivindicação 34, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o antagonista de PD1 é selecionado dentre pembrolizumabe, nivolumabe, MEDI0680, PDR001 (espartalizumabe), Camrelizumabe, AUNP12, pidilizumabe Cemiplimabe (REGN-2810), AMP-224, BGB-A317 (Tisleizumab) e BGB-108.

36.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente secundário é um antagonista de PD-L1.

37.Composição, método, uso ou kit de acordo com a reivindicação 36, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o antagonista de PD-L1 é selecionado de atezolizumab (Tecentriq), BMS-936559/MDX-1105, durvalumab/MEDI4736, e MSB0010718C (Avelumab).

38.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente secundário é um agonista de G1TR (Glucocorticoid-Induced INFR-Related protein-proteína Relacionada a INFR Induzida por Glucocorticoide) .

39.Composição, método, uso ou kit de acordo com a reivindicação 38, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agonista de G1TR (Glucocorticoid-Induced INFR-Related protein-proteína Relacionada a TNFR Induzida por Glucocorticoide) é selecionado de MEDI1873, TRX518, GWN323, MK-1248, MK 4166, BMS-986156 e INCAGN1876.

40.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente secundário é um agonista de OX40.

41.Composição, método, uso ou kit, de acordo com a reivindicação 40, **CARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agonista OX40 é selecionado de

MEDI0562, MEDI6383, MOXR0916, RG7888, OX40mAb24, INCAGN1949, GSK3174998, e PF-04518600.

42.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, **CHARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente secundário é um antagonista de CTLA-4.

43.Composição, método, uso ou kit, de acordo com a reivindicação 42, **CHARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o antagonista de CTLA-4 é selecionado de ipilimumab e Tremelimumab.

44.Composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, **CHARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente secundário é um agente de hipometilação.

45.Composição, método, uso ou kit, de acordo com a reivindicação 44, **CHARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente de hipometilação é selecionado dentre 5-azacitidina (azacitidina) e 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina).

46.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, **CHARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente secundário é um agente que sobrerregula a expressão de HER2.

47.Composição, método, uso ou kit de acordo com a reivindicação 46, **CHARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente que sobrerregula a expressão de HER2 é selecionado de gencitabina e tamoxifeno.

48.Composição, método, uso ou kit de acordo com qualquer reivindicação anterior, **CHARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente anti-CD20 é o rituximab.

49.Composição, método, uso ou kit, de acordo com qualquer reivindicação anterior, **CHARACTERIZADA(o)** pelo fato de que o agente anti-CD20 é selecionado dentre obinutuzumab, Ibritumomab tiuxetan, tositumomab, Ofatumumab, Ocaratuzumab, Ocrelizumab, e Veltuzumab.

**SEQUÊNCIAS**SEQ ID NO. 1 (RB4v1.0 VH):

QVQLVQPGAIEVVKPGASVKLSCKTSGYTFTSNWMHWVKQRPGQGLEWIGEIDPSDSY  
 TNYNQNFKGKAKLTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYYAMDYWGQGT  
 SVTVS

SEQ ID NO. 2 (RB4v1.2 VH):

QVQLVQPGAIEVVKPGASVKLSCKTSGYTFTSNWMHWVKQAPGQGLEWIGEIDPSDSY  
 TNYNQNFQKGKAKLTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYYAMDYWGQGT  
 SVTVS

SEQ ID NO. 3 (B43 VH):

QVQLLESGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGD  
 TNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLRSEDSAVYSCARRETTTVGRYYYAMDYWG  
 QGTTVT

SEQ ID NO. 4 (HD37 VH):

QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGD  
 TNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWG  
 QGTSVTVS

SEQ ID NO. 5 (4G7 VH): EVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKP  
 GQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGT  
 YYYGSRVFDYWGQGTTLTVS

SEQ ID NO. 6 (FMC63 VH): EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ  
 PPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAIYYCAKHY  
 YYGGSYAMDYWGQGTSTVTVS

SEQ ID NO. 7 (RB4v1.0 VK):

EIVLTQSPAIMSASPGERVTMTCSASSGVNYMHWYQQKPGTSPRRWIYDTSKLAGVGP  
 ARFSGSGSGTSYSLTISSMEPEDAATYYCHQRGSYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO. 8 (RB4v1.2 VK):

EIVLTQSPAIMSASPGERVTMTCSASSGVNYMHWYQQKPGTSPRRWIYDTSKLAGVGP  
 ARFSGSGSGTSYSLTISSMEPEDAATYYCHQRGSYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO. 9 (B43 VK):

ELVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDDYDGD SYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVS  
 GIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO. 10 (HD37 VK):

DILLTQTASLAVSLGQRATISCKASQSVDDYDGD SYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVS  
 GIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO. 11 (4G7 VK):

DIVMTQAAPSIPTPGESVSISCRSSKSLNSNGNTLYWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLA  
 SGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

**Figura 1A**

SEQ ID NO. 12 (FMC63 VK):

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS  
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT

SEQ ID NO. 13 (Epratuzumab VH):

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWLHWVRQAPGQGLEWIGYINPRNDY  
TEYNQNFKDKATITADESTNTAYMELSSLRSEDATFYFCARRDITTFYWGQG

SEQ ID NO. 14 (Epratuzumab VL):

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMSCKSSQSVLYSANHKNYLAWYQQKPGKAPKLLIWAST  
RESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCHQYLSSWTFGQG

SEQ ID NO. 15 (EMabC220-HC):

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWLHWVRQAPGQGLEWIGYINPRNDY  
TEYNQNFKDKATITADESTNTAYMELSSLRSEDATFYFCARRDITTFYWGQGLTVTVSSA  
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTVPPVPAPELLG  
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ  
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVD  
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO. 16 (EMabC220-LC):

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMSCKSSQSVLYSANHKNYLAWYQQKPGKAPKLLIWAST  
RESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCHQYLSSWTFGQGTKEIKRTVAAPS  
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS  
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGES

SEQ ID NO. 17 (RB4v1.2-HC):

QVQLVQPGAIEVVKPGASVKLSCKTSGYTFTSNWMHWVKQAPGQGLEWIGEIDPSDSY  
TNYNQNFQGKAKLTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYYAMDYWGQGT  
SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF  
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC  
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK  
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFL  
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO. 18 (RB4v1.2-LC):

EIVLTQSPAISASPGERTMTCSASSGVNMYHWYQQKPGTSPRRWIYDTSKLASGVP  
ARFSGSGSGTSYSLTISSMEPEDAATYYCHQRGSYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPS  
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTL  
TISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**Figura 1B**

SEQ ID NO. 110 (região constante IgG1 HC)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO. 114 (região constante IgG1 HC, BJ C→V)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTVPPVPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO. 150 (região constante κLC)

VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO. 151 (região constante κLC, 105S)

VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGES

SEQ ID NO. 160 (região constante λLC)

KAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO. 161 (região constante λLC, C102S)

KAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTESS

**Figura 1C**

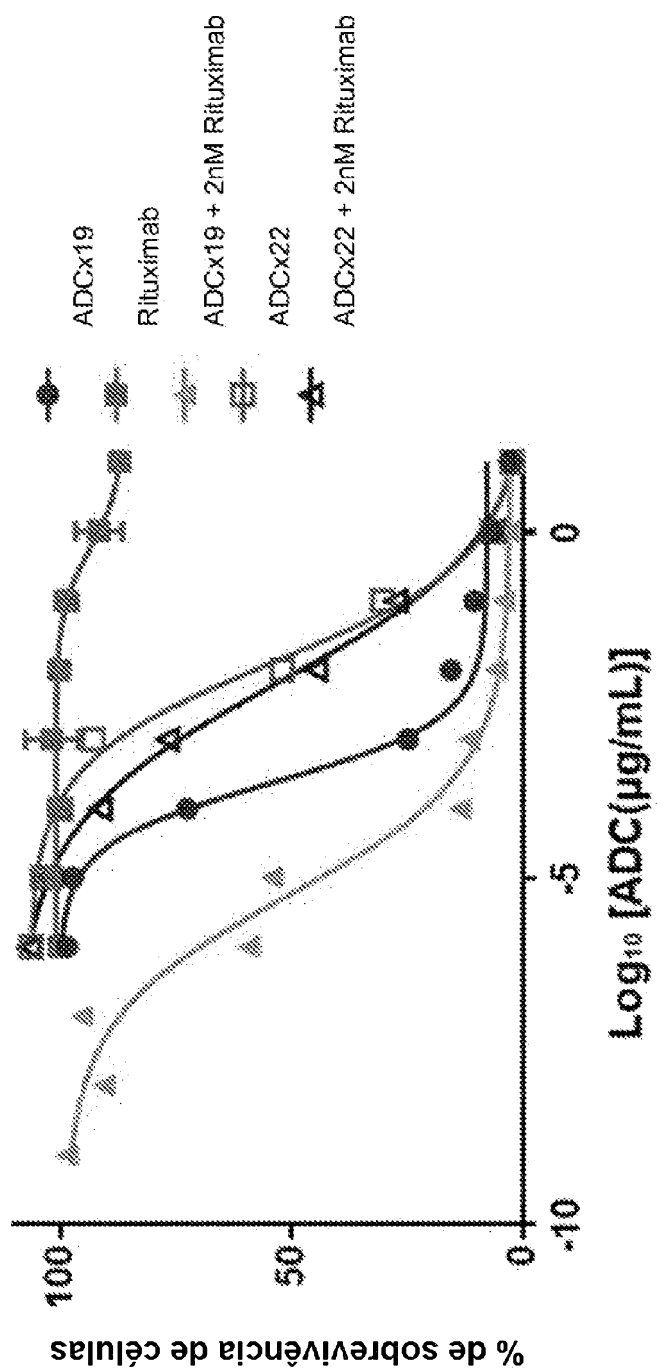


Figura 2

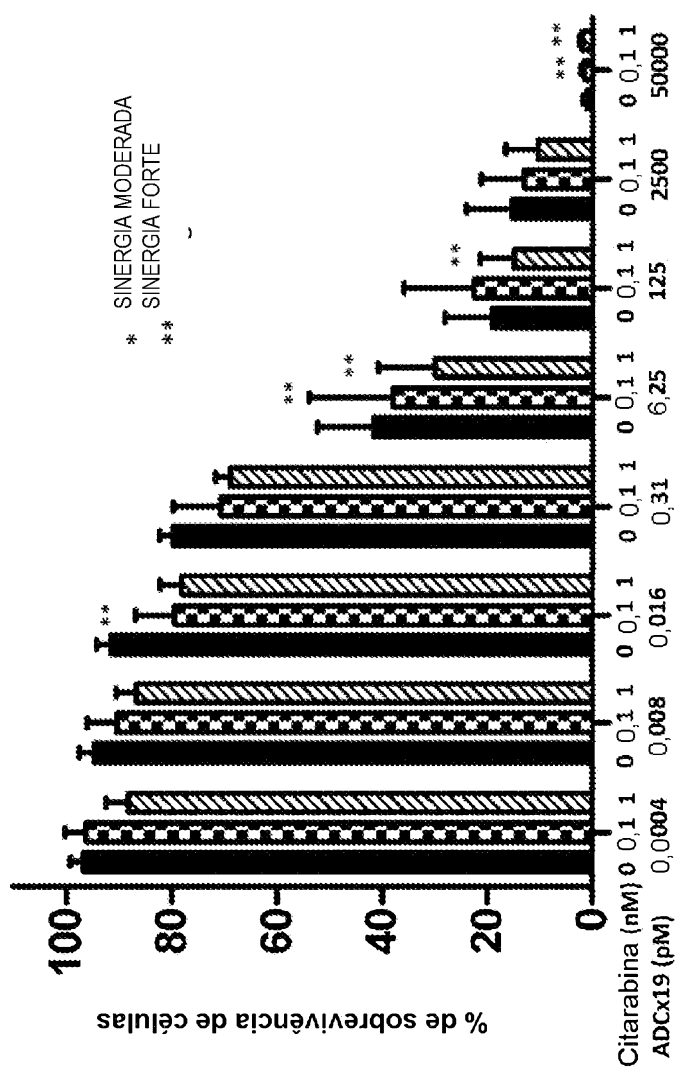


Figura 3

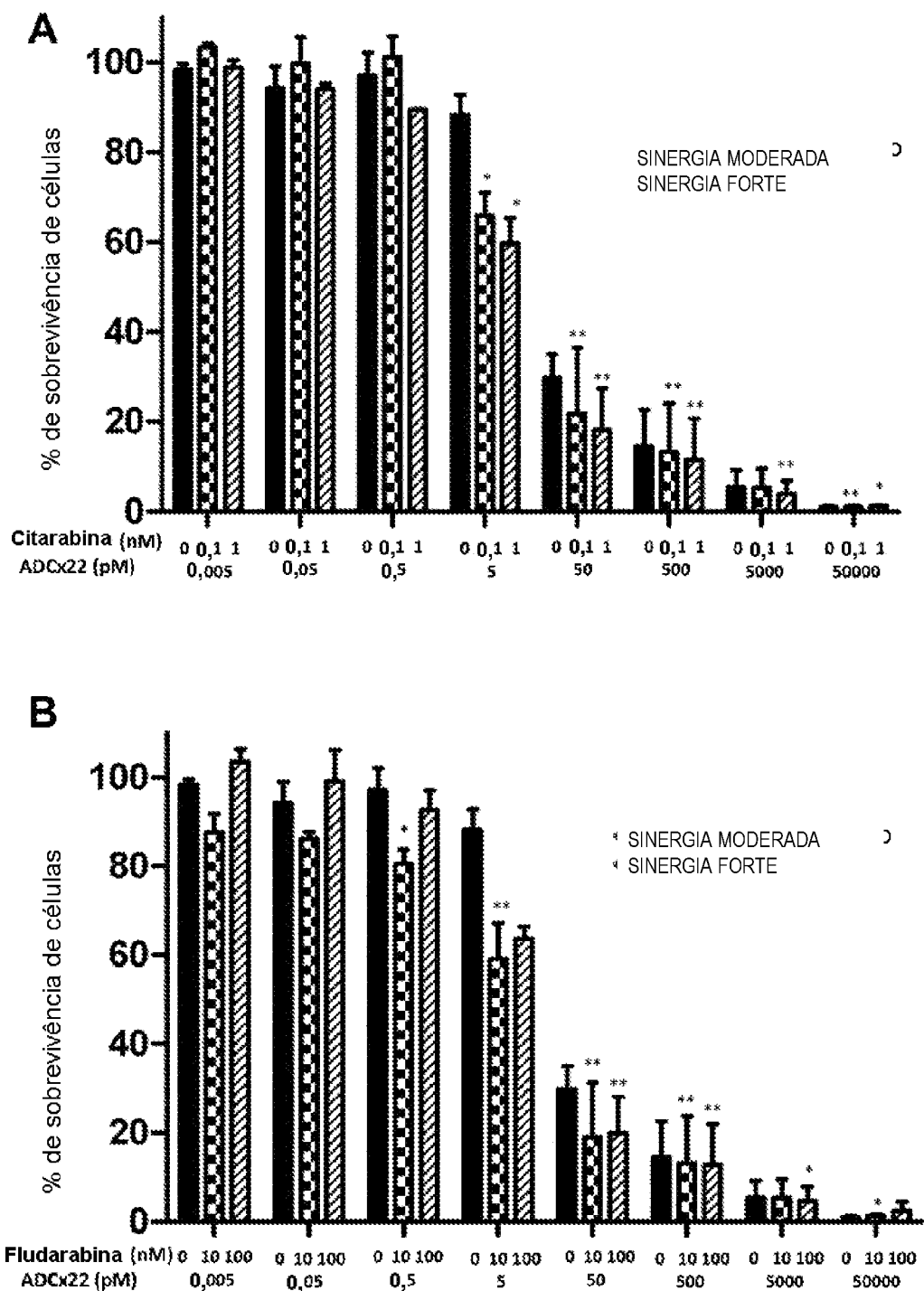


Figura 4



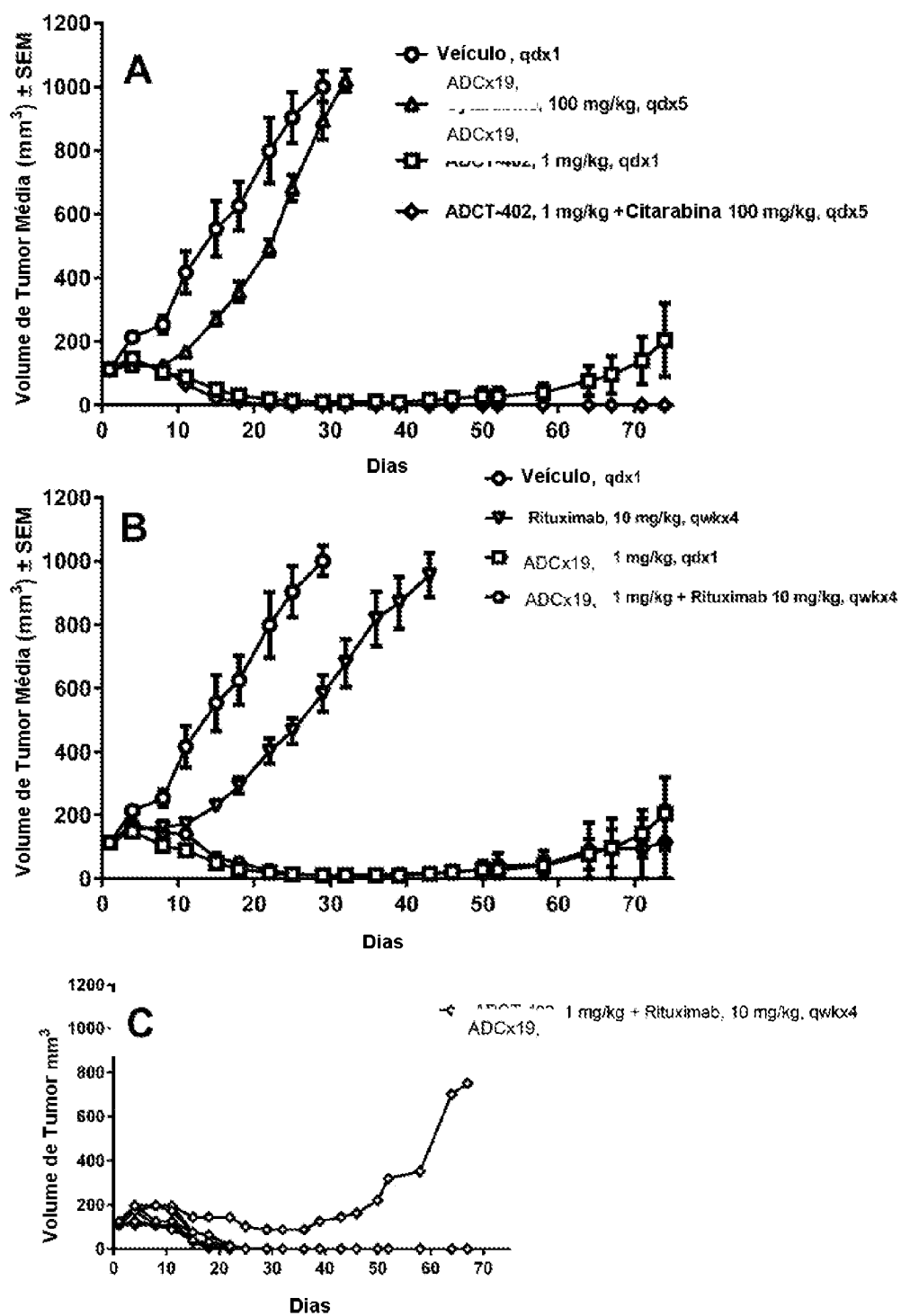


Figura 5

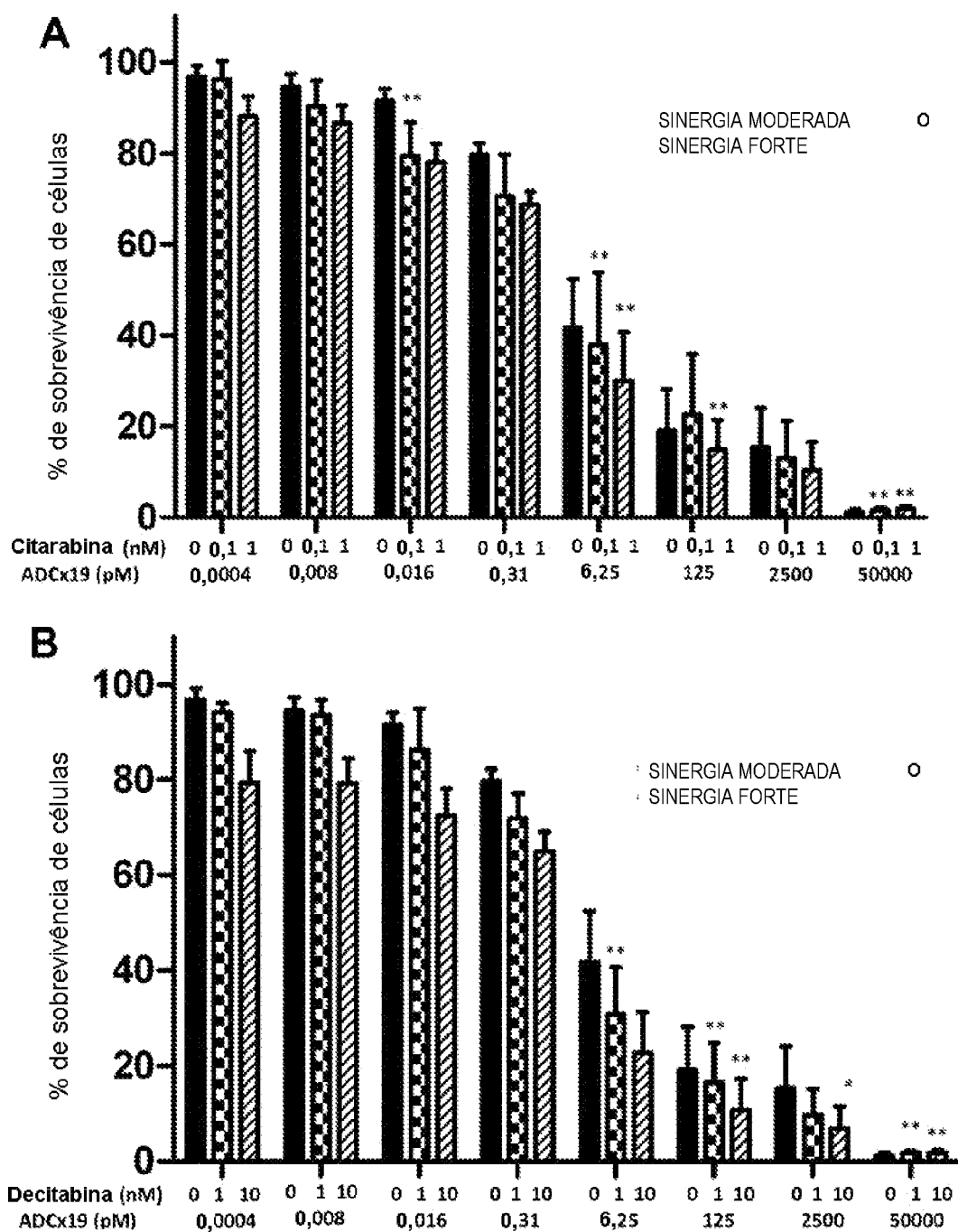


Figura 6

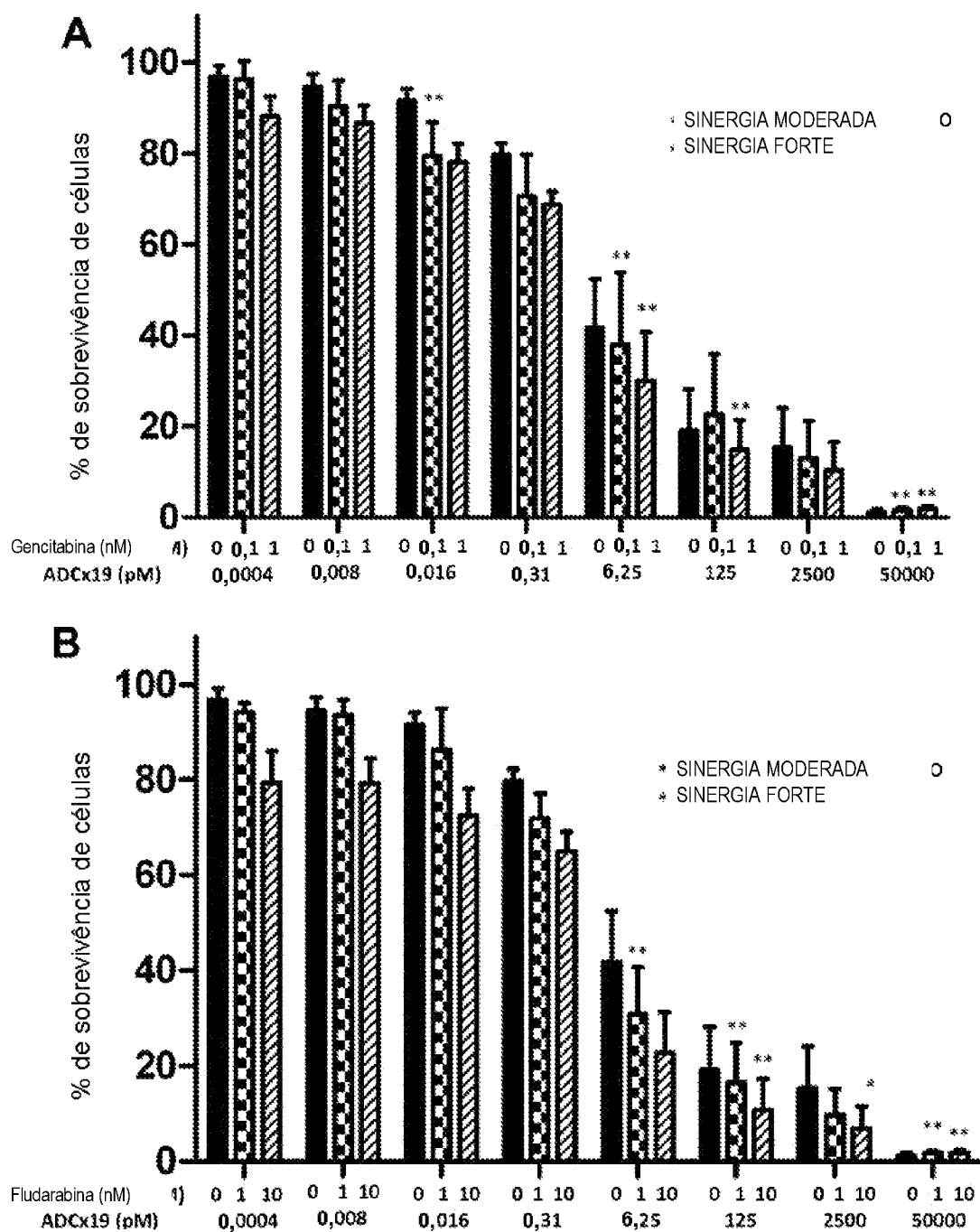


Figura 6

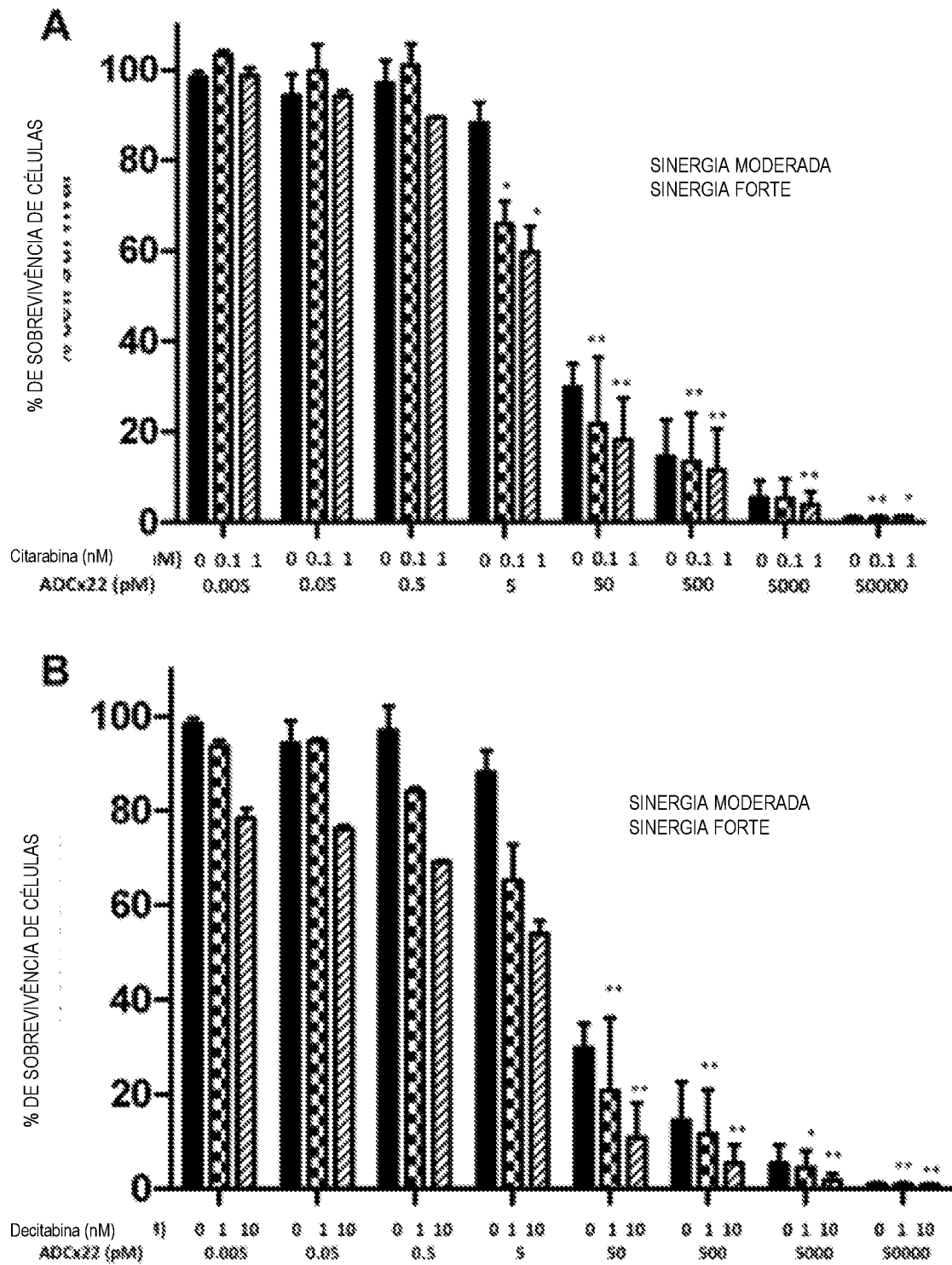


Figura 7

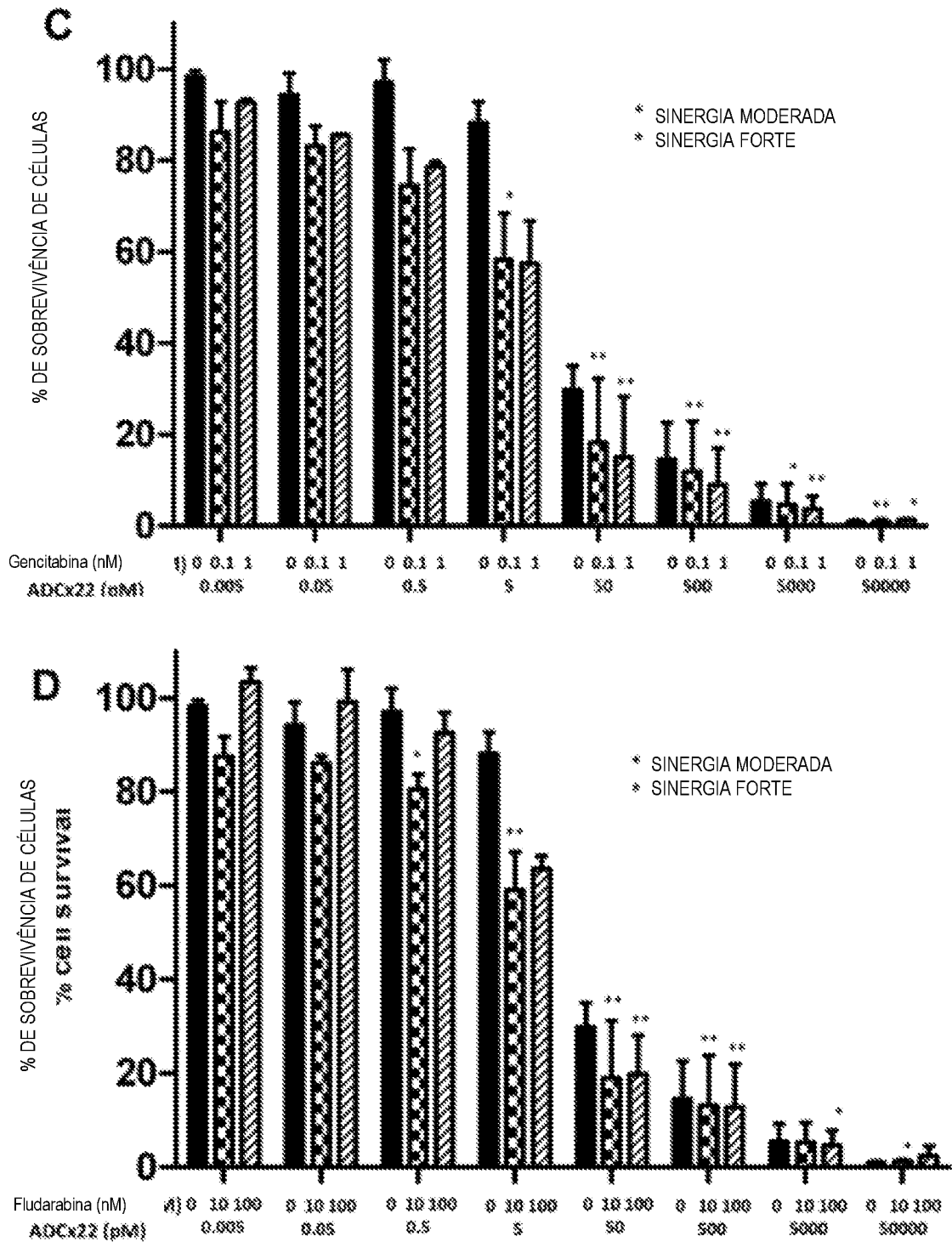


Figura 7

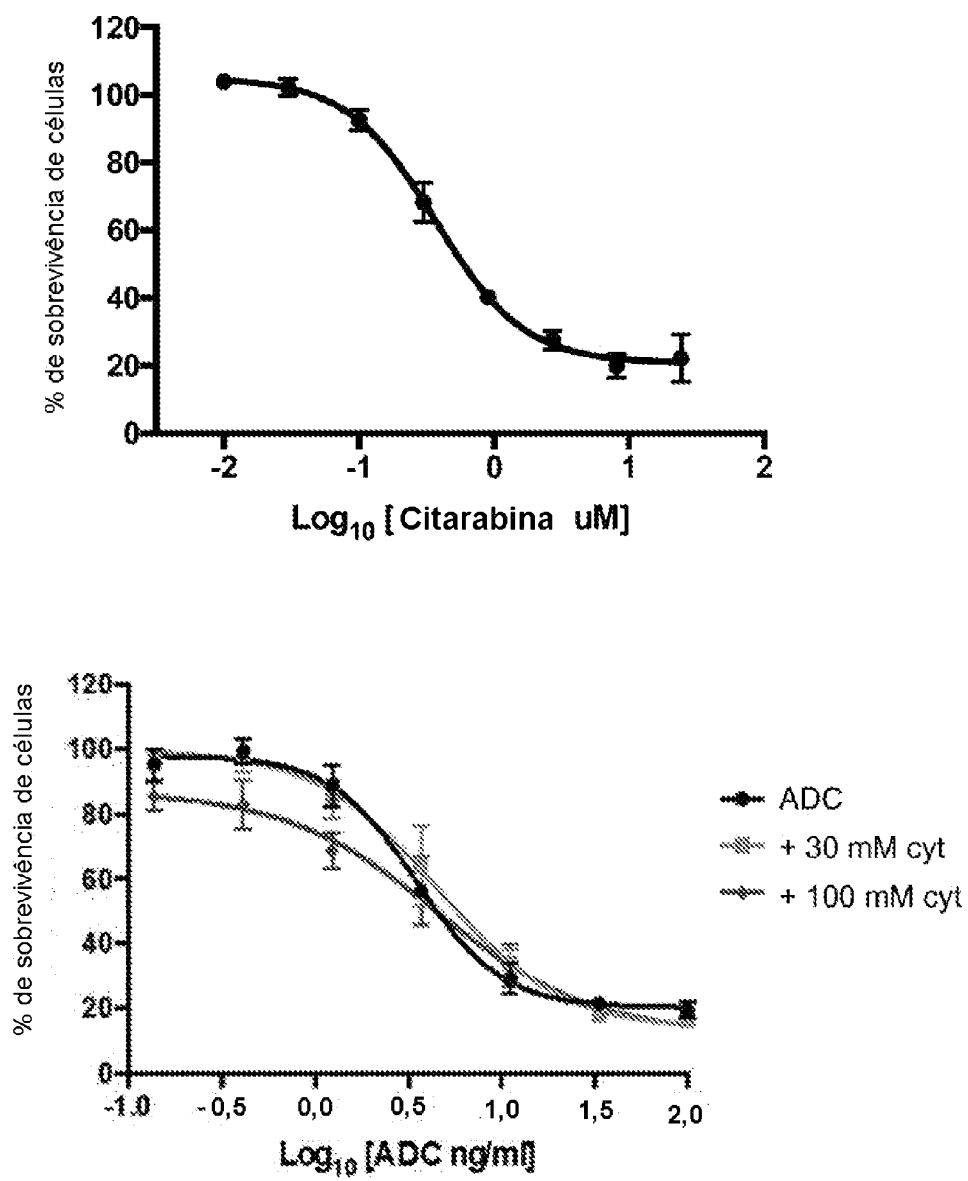


Figura 8

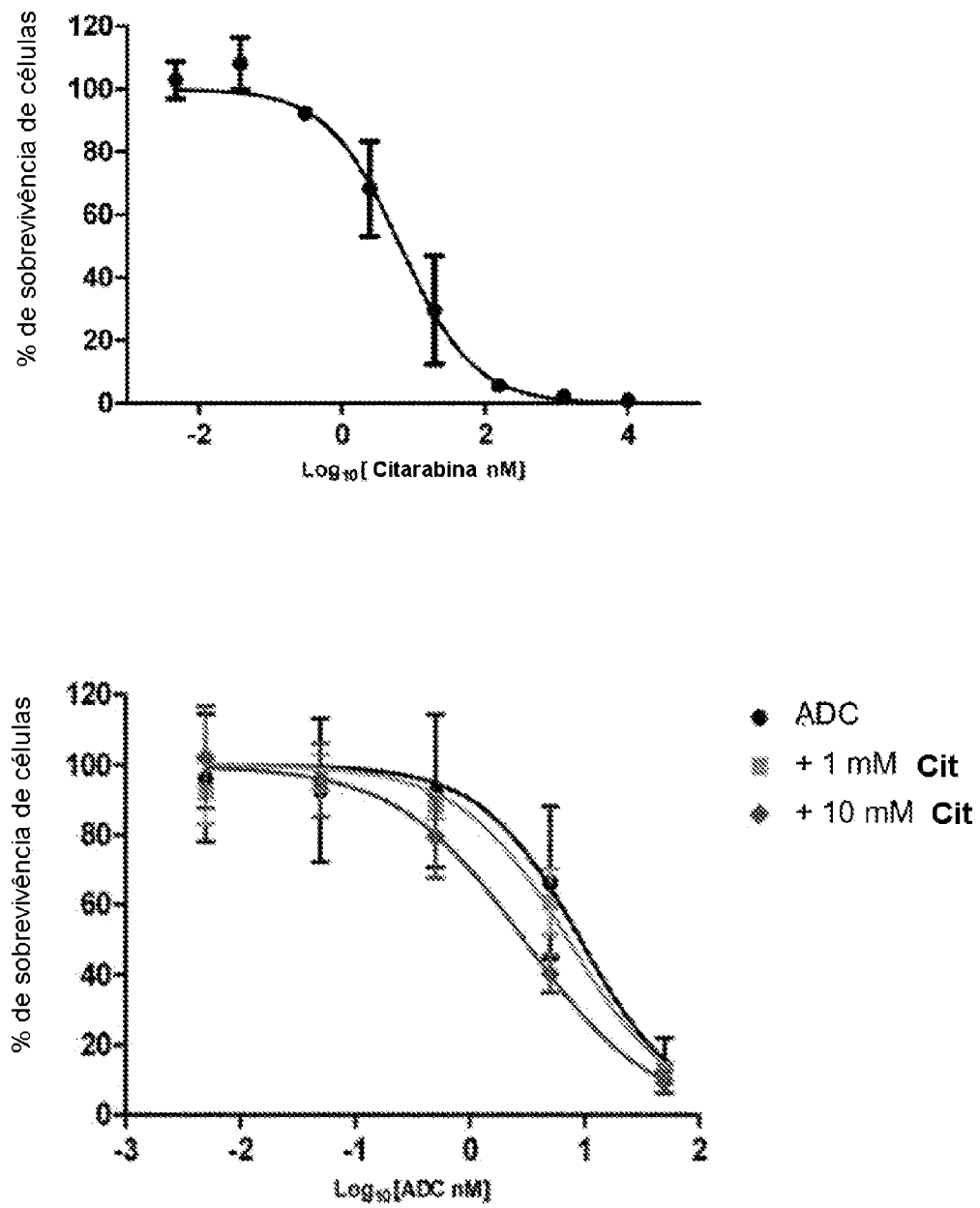


Figura 9

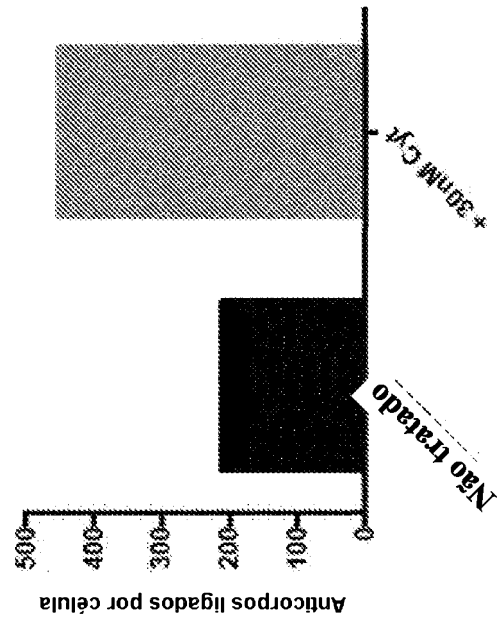
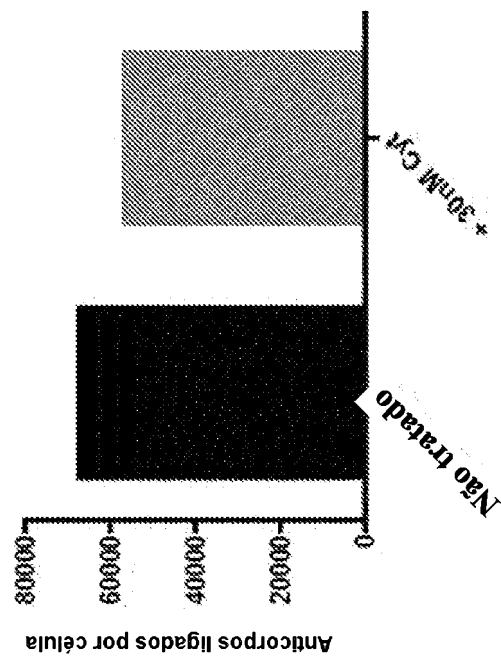


Figura 10





## RESUMO

### “TERAPIA DE COMBINAÇÃO”

A presente divulgação refere-se a terapias de combinação para o tratamento de condições patológicas, tal como câncer. Em particular, a presente divulgação refere-se a terapias de combinação que compreendem o tratamento com um Conjugado de Anticorpo Fármaco (ADC), um agente secundário e, opcionalmente, um agente anti-CD20. Os Conjugados Anticorpo Fármaco têm como alvo CD19 ou CD22 e são divulgados para o tratamento de cânceres. Métodos para identificar um indivíduo como adequado para tratamento selecionando o paciente se ele/ela é ou foi tratado(a) com um agente anti-CD20, tal como rituximab, são divulgados. Opcionalmente, o ADC é administrado em combinação com um agente adicional, por exemplo, um agente quimioterapêutico.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

### Código de Controle

Campo 1



Campo 2



### Outras Informações:

- Nome do Arquivo: 195381-8\_LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS.txt
- Data de Geração do Código: 17/12/2019
- Hora de Geração do Código: 17:53:37
- Código de Controle:
  - Campo 1: 5DEE241DB1A9E541
  - Campo 2: DE517B2311F26505