

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 960 013**

51 Int. Cl.:

A61K 51/10 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.01.2018** **PCT/EP2018/051533**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.07.2018** **WO18134430**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.01.2018** **E 18700616 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2023** **EP 3570897**

54 Título: **Radioinmunoconjugado para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea**

30 Prioridad:

23.01.2017 EP 17152694

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

29.02.2024

73 Titular/es:

**TELIX PHARMACEUTICALS (SWITZERLAND)
GMBH (100.0%)
Rampe du Pont-Rouge 5a
1213 Petit-Lancy, CH**

72 Inventor/es:

**ORCHARD, KIM y
BOSSLET, KLAUS**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 960 013 T3

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

DESCRIPCIÓN

Radioinmunoconjugado para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea

Descripción

La presente invención se refiere al uso de radioinmunoconjugados para el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, particularmente la amiloidosis AL.

Antecedentes de la invención

La médula ósea es el tejido flexible que se encuentra en el interior de los huesos. Es responsable de la producción de glóbulos rojos, glóbulos blancos, mielocitos, células plasmáticas y plaquetas. La médula ósea contiene células madre que son células primitivas que pueden convertirse en cualquier célula deseada del cuerpo. Según sea necesario, las células madre se diferencian para convertirse en un tipo particular de célula. A partir de la médula ósea, sólo las células maduras se liberan al torrente circulatorio.

Las enfermedades asociadas con la médula ósea suelen estar relacionadas con una anomalía en la producción de cualquiera de las células sanguíneas maduras o de las células inmaduras precursoras o predecesoras.

En una realización de la invención, las enfermedades asociadas con la médula ósea son aquellas que pueden tratarse mediante trasplante de células madre, por ejemplo, trasplante de células madre autólogas o trasplante de células madre alogénicas. En un aspecto de la invención, las enfermedades asociadas con la médula ósea son aquellas que pueden tratarse mediante trasplante de células madre hematopoyéticas. El trasplante de células madre, en particular el trasplante de células madre hematopoyéticas, se usa en determinadas enfermedades para sustituir un defecto, por ejemplo, a nivel de metabolismo, nivel de inmunidad, nivel genético o transformación maligna de la médula ósea.

En la amiloidosis AL, los clones neoplásicos anómalos de células plasmáticas en la médula ósea producen cadenas ligeras de inmunoglobulinas monoclonales en exceso que se autoensamblan y depositan en los órganos, provocando disfunción orgánica. Los depósitos tienen una estructura secundaria plegada en β característica que se observa mediante microscopía electrónica como fibrillas lineales no ramificadas de 8-10 nm. Puede verse afectado prácticamente cualquier órgano o combinación de órganos distintos del cerebro.

La amiloidosis AL se diagnostica mediante tinción con rojo Congo de una muestra de biopsia tisular que muestra un dicroísmo de color verde manzana patognomónico bajo luz polarizada. Recientemente, en el Centro Nacional de Amiloidosis del Reino Unido se desarrolló la gammagrafía de amiloide P sérico (SAP) radiomarcado como una herramienta para obtener imágenes no invasivas y monitorizar los depósitos de amiloide y ha demostrado inequívocamente que existen depósitos de amiloide de todo tipo en un estado de renovación dinámica y pueden retroceder cuando la abundancia de la proteína precursora de fibrillas respectiva se reduce lo suficiente.

La amiloidosis AL tiene una incidencia de por vida y es la causa de muerte de entre 0,5 y 1 por cada mil personas en el Reino Unido. Ocurre por igual en hombres y mujeres y la mediana de edad en el momento del diagnóstico es de 65 años. Sin terapia, es inexorablemente progresiva y, hasta hace poco, la mediana de supervivencia era tan sólo de 6-15 meses.

Después de establecerse la naturaleza inmunoglobulínica de los depósitos de amiloidosis AL, aparecieron en la bibliografía informes de casos que afirmaban respuestas beneficiosas a la terapia citotóxica. La eficacia del melfalán y la prednisolona (MP) orales se comparó sistemáticamente con la colquicina, en realidad un placebo, en un ensayo prospectivo aleatorizado de 219 pacientes realizado por el grupo de la Clínica Mayo. La mediana de supervivencia fue de 17 meses y 8,5 meses en los grupos de MP y colquicina, respectivamente, lo que demuestra de manera sólida por primera vez el beneficio de la terapia citotóxica en la amiloidosis AL (Kyle *et al.*, The New England Journal of Medicine, 1997; 336(17): 1202-7). En un intento por identificar qué pacientes con amiloidosis AL probablemente obtendrían el mayor beneficio de la terapia con MP, los investigadores de la Clínica Mayo informaron sobre un seguimiento a largo plazo de 153 pacientes que recibieron esta terapia durante un periodo planificado de 24-36 meses (Gertz *et al.*, Journal of Clinical Oncology, 1999; 17(1): 262-7). Usando criterios de respuesta estrictos, que incluyeron la desaparición completa de cualquier proteína monoclonal sérica o urinaria previa al tratamiento junto con una mejora en la disfunción orgánica, respondió el 18 % de los pacientes. La mediana de supervivencia entre los pacientes que respondieron fue de 89,4 meses y la mediana del tiempo para lograr una respuesta fue de 11,7 meses. Sin embargo, una cuarta parte de los pacientes que respondieron murieron a causa de mielodisplasia o leucemia aguda.

Las respuestas relativamente deficientes y tardías a MP en la amiloidosis AL despertaron el interés en el uso de la terapia con dosis altas de melfalán y el trasplante de células madre (ASCT). Esto se informó por primera vez en 1996, y poco después Comenzo y colaboradores informaron sobre una serie de 25 pacientes (Comenzo *et al.*, Blood, 1998; 91(10): 3662-70). Posteriormente, varios centros informaron sobre beneficios clínicos en aproximadamente el 60 % de los pacientes que sobrevivieron al procedimiento. Sin embargo, la mortalidad relacionada con el tratamiento fue sustancial y consistentemente mayor entre los pacientes con amiloide que

aquellos con mieloma. La mortalidad a los 100 días en dos estudios experimentados monocéntricos en EE. UU. fue de aproximadamente el 14 % y en dos estudios multicéntricos en Europa de ~40 %, lo que refleja la función comprometida de múltiples sistemas orgánicos por el amiloide. Estos hallazgos resaltaron la necesidad de refinar la selección de pacientes para el ASCT y mejorar el tratamiento clínico peritrasplante, al mismo tiempo que generaron interés en regímenes terapéuticos alternativos y menos tóxicos.

En los EE. UU., se refinó la selección de pacientes (Comenzo *et al.*, Blood, 2002; 99(12): 4276-82) y el ASCT siguió siendo el "tratamiento de referencia" terapéutico para el tratamiento de la amiloidosis AL. El Grupo de Boston informó recientemente sobre los resultados del seguimiento a largo plazo de 701 pacientes consecutivos con amiloidosis AL sistémica; 394 (56 %) se consideraron aptos para el ASCT, 82 de los cuales no avanzaron debido a la elección del paciente o a la progresión de la enfermedad (Skinner *et al.*, Ann Intern Med, 2004; 140(2): 85-93). La mortalidad relacionada con el tratamiento (TRM) entre 312 pacientes que iniciaron la terapia fue del 13 % y la mediana de supervivencia para toda la cohorte fue de 4,6 años. La mediana de supervivencia entre los pacientes no aptos fue tan sólo de 4 meses. Curiosamente, Dispenzieri *et al.* examinaron datos de pacientes con amiloidosis AL tratados en la clínica Mayo desde 1983 hasta 1997 e identificaron a 229 pacientes que ahora habrían sido aptos para el ASCT. La mediana de supervivencia era de 42 meses y las tasas de supervivencia a los 5 y 10 años eran del 36 % y el 15 %, respectivamente, lo que sugiere que el beneficio de supervivencia gracias al ASCT se debe, en parte, a la selección de pacientes más que al régimen terapéutico específico. Un ensayo aleatorizado en Francia arrojó más dudas sobre el papel del ASCT en la amiloidosis AL debido a la alta mortalidad relacionada con el tratamiento de ~22 % y a la ausencia de mejora en la supervivencia global en la rama de ASCT en comparación con la quimioterapia con melfalán-dexametasona oral en un análisis histórico (Jaccard *et al.*, The New England Journal of Medicine, 2007; 357(11): 1083-93). Sin embargo, la alta TRM y las respuestas inferiores a las esperadas dan lugar a muchas críticas a este estudio. Por lo tanto, el papel del ASCT sigue sin estar claro y la práctica reciente en el Centro Nacional de Amiloidosis del Reino Unido ha sido recomendar rara vez el ASCT como tratamiento de primera línea, pero considerar su papel en pacientes que no han respondido adecuadamente al tratamiento de primera línea con regímenes quimioterápicos de dosis intermedias, tales como vincristina, adriamicina y dexametasona (VAD). Recientemente se determinó el resultado entre los 92 pacientes con amiloidosis AL que fueron atendidos en el Centro Nacional de Amiloidosis del Reino Unido y sometidos a ASCT entre 1994 y 2004, la mediana de supervivencia global para toda la cohorte fue de 63 meses y, aunque la TRM fue del 23 %, el análisis retrospectivo identificó un subconjunto de pacientes sin TRM (Goodman *et al.*, Haematologica/The Hematology Journal, 2005; 90(s1): 201). Los factores identificados en el estudio NAC condujeron a un refinamiento de los criterios de selección de pacientes en el Reino Unido y los datos de 2003-2011 de 83 pacientes sometidos a ASCT revelaron una TRM del 6 %.

Incluso en un grupo de pacientes altamente seleccionado, la TRM y la morbilidad del tratamiento persisten. La mayor parte de la morbilidad del tratamiento se debe a la toxicidad del melfalán en dosis altas, que provoca mucositis, daño a órganos terminales debido al fármaco o complicaciones de citopenias.

El tratamiento con dosis altas de melfalán debe aplicarse antes de que los pacientes reciban sus propias células madre hematopoyéticas (trasplante autólogo; ASCT) o las células madre hematopoyéticas de donantes humanos genéticamente relacionados (trasplante alogénico). Tal acondicionamiento es la etapa clave para eliminar tanto el sistema hematopoyético del paciente como las células madre malignas para preparar al paciente para un injerto exitoso y generar efectos terapéuticos óptimos.

Debido a la toxicidad de la etapa de acondicionamiento de melfalán en dosis altas, el ASCT sólo puede aplicarse a pacientes aptos que se encuentren en un estado físico relativamente bueno, principalmente pacientes más jóvenes de menos de 65 años y/o aquellos con buena función orgánica.

A pesar de la cuidadosa selección de los denominados pacientes aptos, todavía hay un porcentaje de un solo dígito de mortalidad relacionada con el tratamiento (TRM), provocada principalmente por las diversas toxicidades del tratamiento con dosis altas de melfalán y las consecuencias directas o indirectas. Claramente, existe una necesidad constante de métodos de tratamiento selectivos que permitan reducir la mortalidad relacionada con el tratamiento provocada principalmente por el tratamiento con dosis altas de melfalán.

Varios radioinmunoconjugados (RIC) que usan anticuerpos monoclonales selectivos para determinados antígenos, tales como CD45, CD33, CD20, CD19 y CD66, han sido objeto de investigación para el acondicionamiento de la médula ósea antes del trasplante en neoplasias malignas hematológicas, tales como la leucemia linfoblástica aguda (LLA), la leucemia mieloide aguda (LMA) y la mielodisplasia transformada (SMD) (Matthews D. *et al.*, Blood, 1999, 94: 1237-1247; Jurcic JG, Cancer Biother Radiopharm., 2000, 15: 319-326; Bunjes D. *et al.*, Blood, 2001, 98: 565-572). Se aplicaron radioinmunoconjugados además de los regímenes de acondicionamiento de referencia. Sin embargo, la mayoría de estos radioinmunoconjugados muestran una captación no selectiva en los órganos. La causa de esta captación inespecífica de un radioinmunoconjugado es multifactorial e incluye la captación específica y no específica y la inestabilidad del inmunoconjugado *in vivo*. Los RIC conocidos muestran una toxicidad limitante de la dosis grave en el hígado, el pulmón y el riñón, debido a la selectividad de los anticuerpos usados y/o a la estabilidad del radiomarcador unido (por ejemplo, tal como se observa usando la molécula marcada con ¹⁸⁸Re de AcM anti-CD66 estudiada por Bunjes *et al.*, Blood, 2001, 98: 565-572). Desafortunadamente, sólo una parte marginal de la dosis inyectada alcanza la diana deseada (Karger, Contrib. Oncol. Basel, 1992, 43, 100-145). Esta limitación es

el motivo principal del fracaso de muchas investigaciones clínicas en el campo de los anticuerpos dirigidos, en las que la toxicidad limitante de la dosis no permitió generar los efectos terapéuticos deseados.

El documento WO 2007/062855 describe el tratamiento de mieloma múltiple usando un anticuerpo monoclonal contra CD66 radiomarcado con ⁹⁰Y. El radioinmunoconjugado descrito no se acumula en el hígado ni en el riñón y se dirige selectivamente a la médula y al bazo. En una primera etapa, se realizaron estudios de dosimetría con radioinmunoconjugados anti-CD66 marcados con ¹¹¹In para determinar la idoneidad para la terapia de los pacientes respectivos. Aquellos pacientes que padecían mieloma múltiple que mostraron una dosimetría favorable (más del 90 %) fueron acondicionados con anticuerpo anti-CD66 marcado con ⁹⁰Y (escalonadamente desde 5 MBq/kg de lbw hasta 45 MBq/kg de lbw). Después de esta primera etapa de acondicionamiento, los pacientes recibieron el tratamiento con dosis altas de melfalán de referencia seguido de un trasplante de células madre hematopoyéticas autólogas.

Los resultados de un estudio clínico aleatorizado de fase II muestran que la radioterapia dirigida con anticuerpos anti-CD66 (ATRT) seguida de dosis altas de melfalán y ASCT (rama A), en comparación con dosis altas de melfalán y ASCT (rama B), muestra una tasa de regresión completa del 50 %, mientras que la rama B tuvo una tasa de regresión completa de tan sólo el 25 %. Los perfiles de efectos secundarios de ambas ramas de tratamiento fueron comparables.

El documento WO 2011/144744 sugiere radioinmunoconjugados (RIC) dirigidos en combinación con agentes citotóxicos, tales como melfalán, después de un trasplante de células madre para el tratamiento de trastornos inflamatorios y/o autoinmunitarios.

El documento US 2012/070440 A1 se refiere a un compuesto conjugado que comprende un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno que se une a un epítipo de CS1 humana e inhibe la secreción de inmunoglobulinas, unido a un resto efector, por ejemplo, seleccionado de un agente citotóxico, un resto de detección, un resto activable, un agente quimioterápico, una lipasa, un antibiótico, un resto quimioattractor, un inmunomodulador o un radioisótopo, o a un marcador detectable, por ejemplo, seleccionado de un compuesto radiactivo, un compuesto fluorescente, una enzima, un sustrato, una etiqueta de epítipo o una toxina.

Los inventores han descubierto inesperadamente que la radioinmunoterapia dirigida en el acondicionamiento de la médula ósea usando un RIC que comprende un componente de unión a CD66 y un radionucleido es adecuada para su uso en el tratamiento de pacientes, particularmente pacientes humanos, que padecen enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, sin la aparición de efectos secundarios detectables.

Por tanto, un aspecto de la presente invención es un radioinmunoconjugado (RIC), que comprende un componente de unión a CD66 y un radionucleido terapéuticamente eficaz, para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, concretamente amiloidosis AL, en el que el componente de unión a CD66 es un anticuerpo, y en el que el radionucleido se une al componente de unión a CD66 a través de un agente quelante, que se une covalentemente al componente de unión a CD66.

Es decir, según la presente invención, un radioinmunoconjugado (RIC) que comprende un componente de unión a CD66 y un radionucleido puede usarse como medicamento para administración en una terapia para enfermedades asociadas con la médula ósea, concretamente amiloidosis AL.

En otro aspecto, los radioinmunoconjugados que comprenden un componente de unión a CD66 y un radionucleido terapéuticamente eficaz son para su uso como medicamento en el acondicionamiento de la médula ósea, particularmente previa a un trasplante de células madre, más particularmente trasplante de células madre hematopoyéticas, en el que el componente de unión a CD66 es un anticuerpo, en el que el radionucleido se une al componente de unión a CD66 a través de un agente quelante, que se une covalentemente al componente de unión a CD66, y en el que el RIC terapéutico es para administración a un paciente que no es apto para el tratamiento con dosis altas de melfalán previo al HSCT y/o a un paciente que fue tratado con terapia de inducción pero tuvo progresión de la enfermedad. El acondicionamiento de la médula ósea puede comprender inmunoblación y mieloablación para prevenir el rechazo del injerto y/o reducir el número de células defectuosas en la médula ósea.

El acondicionamiento de la médula ósea puede medirse, por ejemplo, determinando el agotamiento de la médula ósea usando procedimientos de tinción histopatológica conocidos en la técnica o evaluando los grados de recuentos celulares de sangre periférica. Alternativamente, la aceptación de las células trasplantadas puede evaluarse como una medida de acondicionamiento exitoso.

En una realización preferida, el posterior trasplante de células madre puede ser autólogo o alogénico. Se demostró que el acondicionamiento de la médula ósea según la invención no provoca ningún efecto secundario, tal como náuseas y vómitos, fiebre, mucositis, diarrea y septicemia, que se producen habitualmente en el acondicionamiento de la médula ósea de la técnica anterior. El uso de RIC según la invención en el acondicionamiento de la médula ósea reduce o incluso evita el tratamiento hospitalario en comparación con el tratamiento de acondicionamiento de la médula ósea según los regímenes de la técnica anterior, tales como quimioterapias con dosis altas, por ejemplo, tratamientos con dosis altas de melfalán. En una realización preferida, los RIC de la invención se usan preferiblemente como medicamento en el acondicionamiento de la médula ósea sin agentes citotóxicos o citostáticos

adicionales, tales como melfalán.

En otra realización, los RIC de la invención son para su uso como medicamento en el acondicionamiento de la médula ósea junto con una dosis reducida de agentes citotóxicos o citostáticos en comparación con las dosis convencionales de la técnica anterior.

5 El régimen de tratamiento comprende la administración de radionucleidos adecuados para la irradiación terapéutica y opcionalmente la obtención de imágenes de la médula ósea. La administración de RIC es preferiblemente un régimen de acondicionamiento en combinación con medidas terapéuticas adicionales, particularmente trasplante de células madre. El radionucleido del RIC es un radionucleido terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, el radionucleido terapéuticamente eficaz puede ser un radionucleido emisor β o β/γ , tal como itrio-90 (^{90}Y), yodo-131 (^{131}I), samario-153 (^{153}Sm), holmio-166 (^{166}Ho), renio-186 (^{186}Re), renio-188 (^{188}Re) o lutecio-177 (^{177}Lu), o puede ser un emisor α tal como astato-211 (^{211}At), bismuto-212 (^{212}Bi), bismuto-213 (^{213}Bi) o actinio-225 (^{225}Ac). En una realización preferida, el radionucleido terapéuticamente eficaz es itrio-90 (^{90}Y).

10 El radionucleido de obtención de imágenes es un radionucleido que es adecuado para monitorizar y/o determinar la farmacocinética del RIC. Por ejemplo, el radionucleido de obtención de imágenes puede ser indio-111 (^{111}In), yodo-131 (^{131}I) o tecnecio-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$). En una realización preferida, el radionucleido de obtención de imágenes es indio-111 (^{111}In).

15 En una realización particularmente preferida, el RIC de la invención es para su uso como medicamento que abarca determinar la dosis terapéuticamente eficaz del RIC terapéutico antes de la administración. Esta determinación puede llevarse a cabo individualmente para un sujeto que va a tratarse o para un grupo de sujetos, por ejemplo, en función de la gravedad de la progresión de la enfermedad. Por ejemplo, el RIC de la invención puede ser para su uso como medicamento que comprende la administración de un RIC que comprende un radionucleido de obtención de imágenes y la administración posterior de un RIC que comprende un radionucleido terapéuticamente eficaz. Mediante la administración en primer lugar de un RIC de obtención de imágenes, la dosis eficaz del RIC terapéutico administrado posteriormente puede determinarse y/o ajustarse individualmente para el sujeto respectivo, por ejemplo, un paciente humano. En esta realización, el componente de unión a CD66 del RIC de obtención de imágenes y del RIC terapéutico es preferiblemente idéntico, al menos con respecto a la especificidad y/o afinidad de unión a CD66.

En una realización preferida, el RIC de obtención de imágenes se administra a un paciente 2-10 días, preferiblemente de 2-8 días, antes de la administración de un RIC terapéutico.

20 Sin embargo, cabe señalar que la administración de un RIC de obtención de imágenes antes de la administración de un RIC terapéutico podría no ser necesaria si se han recopilado suficientes datos del paciente, por ejemplo, en una base de datos, para determinar una cantidad terapéuticamente activa del RIC. Por tanto, una realización preferida adicional de la invención comprende un RIC para su uso como medicamento que comprende determinar una dosis terapéuticamente eficaz del RIC mediante la evaluación de datos preexistentes, por ejemplo, a partir de una base de datos, en combinación particular con un análisis inmunohistoquímico de la celularidad de la médula ósea del paciente.

25 El componente de unión a CD66 es un anticuerpo, particularmente un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo recombinante, tal como un anticuerpo monocatenario o un fragmento del mismo, por ejemplo, fragmentos de anticuerpos proteolíticos tales como fragmentos Fab, Fab' o F(ab)₂ o fragmentos de anticuerpos recombinantes tales como fragmentos Fv monocatenarios.

El componente de unión a CD66 también puede ser un polipéptido de fusión que comprende al menos un dominio de unión a anticuerpo, concretamente un anticuerpo, y un dominio adicional, por ejemplo, un dominio efector, tal como una enzima o citocina.

30 En una realización preferida, el componente de unión a CD66 se une selectivamente al antígeno CD66 humano o a un epitopo del mismo, por ejemplo, CD66a, b, c o e. En una realización particularmente preferida, el componente de unión a CD66 es el anticuerpo BW250/183. Las formas murina, humanizada y recombinante de este anticuerpo se describen en los documentos EP-A-0 388 914, EP-A-0 585 570 y EP-A-0 972 528.

35 El radionucleido se une al componente de unión a CD66 a través de un agente quelante, siendo el enlace un enlace covalente. Preferiblemente, el radionucleido se une al componente de unión a CD66 a través de una estructura de fórmula

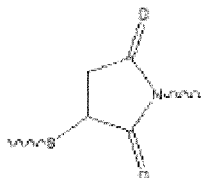
$$[(\text{agente quelante})-(\text{R}^1)_p-(\text{R}^2-\text{R}^3)_n]_m-(\text{componente de unión a CD66})$$

en la que n es 0 ó 1,

m es de 1 a 15,

p es 0 ó 1,

R¹ y R³ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -NH-CS-NH-, -NHCONH-, -NHCOCH₂S-, -S-S-, -NH-NH-, -NH-, -S-, -CONHNH-, -SCH₂CH₂COONH-, -SCH₂CH₂SO₂-, -SCH₂CH₂SO₂NH-, -CONH-, -O-CH₂CH₂O-, -CO-, -COO-, -NH-O-, -CONHO-, -S-(CH₂)₃C(NH)NH-, -NH-COO-, -O- y

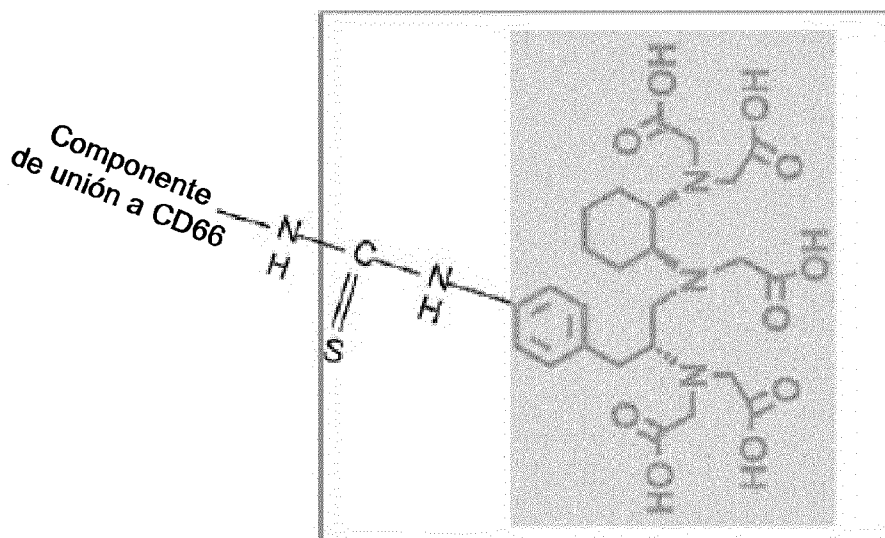


5 preferiblemente -NHCSNH-, y

R² se selecciona del grupo que consiste en alquileo C1-C18, C1-C18 ramificado, -CH₂-C₆H₁₀-, *p*-alquilfenileno, *p*-fenileno, *m*-fenileno, *p*-alquioxifenileno, naftileno, -[CH₂CH₂O]_x-, -[CH₂CH₂SOCH₂CH₂]_x-, -[CH₂CH₂SO₂CH₂CH₂]_x- o -[NHCHR₄CO]_y-, en las que x es de 1 a 200, y es de 1 a 20, y en la que R₄ se selecciona del grupo que consiste en H-, Me-, HSCH₂-, isopropilo, but-2-ilo, CH₃SCH₂CH₂-, bencilo, 1*H*-indol-3-il-metilo, HOCH₂-, HOOCCH₂-, CH₃CH(OH)-, HOOCCH₂CH₂-, 4-hidroxibencilo, H₂NCOCH₂-, H₂NCOCH₂CH₂-, 4-aminobut-1-ilo, 2-guanidinoetilo, 1*H*-imidazol-5-il-metilo y 2-metilprop-1-ilo.

Por ejemplo, el agente quelante puede seleccionarse del grupo que consiste en ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA), ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (TETA), ácido 1,4,7-triazonano-N,N',N''-triacético (NOTA), ácido 2,2'-(2-(((1*S*,2*S*)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodiil)diacético (ciclohexano-DTPA), ácido 2,2'-(2-(((1*R*,2*R*)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(2-(((1*S*,2*R*)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(2-(((1*R*,2*S*)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodiil)diacético, ácido 2,2',2'',2'''-(2,2'-(1*S*,2*S*)-ciclohexano-1,2-diilbis((carboximetil)azanodiil)bis(etano-2,1-diil))bis(azanotriil)tetraacético, ácido 2,2',2'',2'''-(2,2'-(1*S*,2*R*)-ciclohexano-1,2-diilbis((carboximetil)azanodiil)bis(etano-2,1-diil))bis(azanotriil)tetraacético, ácido (1*R*)-1-bencil-dietilentriaminopentaacético, ácido (1*S*)-1-bencil-dietilentriaminopentaacético, ácido (2*R*)-2-bencil-dietilentriaminopentaacético, ácido (2*S*)-2-bencil-dietilentriaminopentaacético, (2*R*)-2-bencil-(3*R*)-3-metil-DTPA, (2*R*)-2-bencil-(3*S*)-3-metil-DTPA, (2*S*)-2-bencil-(3*S*)-3-metil-DTPA, (2*S*)-2-bencil-(3*R*)-3-metil-DTPA, (2*R*)-2-bencil-(4*R*)-4-metil-DTPA, (2*R*)-2-bencil-(4*S*)-4-metil-DTPA, (2*S*)-2-bencil-(4*S*)-4-metil-DTPA, (2*S*)-2-bencil-(4*R*)-4-metil-DTPA, (1*R*)-1-bencil-(3*R*)-3-metil-DTPA, (1*R*)-1-bencil-(3*S*)-3-metil-DTPA, (1*S*)-1-bencil-(3*S*)-3-metil-DTPA, (1*S*)-1-bencil-(3*R*)-3-metil-DTPA, (1*R*)-1-bencil-(4*R*)-4-metil-DTPA, (1*R*)-1-bencil-(4*S*)-4-metil-DTPA, (1*S*)-1-bencil-(4*S*)-4-metil-DTPA, (1*S*)-1-bencil-(4*R*)-4-metil-DTPA, ácido 2,2'-(((1*R*,2*R*)-2-(((*R*)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(((1*S*,2*S*)-2-(((*S*)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(((1*R*,2*R*)-2-(((*S*)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(((1*S*,2*S*)-2-(((*R*)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(((1*R*,2*S*)-2-(((*R*)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(((1*S*,2*R*)-2-(((*S*)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(((1*S*,2*R*)-2-(((*R*)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(((1*R*,2*S*)-2-(((*S*)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido (2*S*)-2-bencil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido (2*R*)-2-bencil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido 6-bencil-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido 2-bencil-1,4,7-triazonano-N,N',N''-triacético, ácido bencil-3-metil-dietilenaminopentaacético (2B3M-DTPA), ácido (R)-2-amino-3-(fenil)propil)trans-(*S*,*S*)-ciclohexano-1,2-diamino-pentaacético (Bn-CHX-A"-DTPA, también denominado CHX-A"-DTPA) y sales y derivados de los mismos, particularmente ácido (R)-2-amino-3-(fenil)propil)trans-(*S*,*S*)-ciclohexano-1,2-diamino-pentaacético (Bn-CHX-A"-DTPA, también denominado CHX-A"-DTPA) y sales del mismo.

Un radioinmunoconjugado preferido para su uso según la invención tiene la estructura componente de unión a CD66-NH-CS-NH-Bn-CHX-A"-DTPA, también denominado componente de unión a CD66-NH-CS-NH-CHX-A"-DTPA, y sales (por ejemplo, sal de cloruro) del mismo según la fórmula I



Más preferiblemente, el radioinmunoconjugado es un BW250/183-NH-CS-NH-Bn-CHX-A"-DTPA (también denominado BW250/183-NH-CS-NH-CHX-A"-DTPA) o una sal del mismo.

La administración del RIC terapéutico para el tratamiento de pacientes humanos es preferiblemente en una dosis de $\geq$ de aproximadamente 10 MBq/kg de peso corporal magro (lbw), preferiblemente $\geq$ de aproximadamente 15 MBq/kg de lbw, más preferiblemente $\geq$ de aproximadamente 20 MBq/kg de lbw, todavía más preferiblemente $\geq$ de aproximadamente 25 MBq/kg de lbw, todavía más preferiblemente $\geq$ de aproximadamente 30 MBq/kg de lbw y todavía más preferiblemente $\geq$ de aproximadamente 35 MBq/kg de lbw. Preferiblemente, la dosis del radioinmunoconjugado terapéutico oscila hasta 60 MBq/kg de lbw, preferiblemente hasta 50 MBq/kg de lbw, más preferiblemente hasta 45 MBq/kg de lbw.

El RIC puede administrarse según métodos conocidos, por ejemplo, mediante infusión, opcionalmente junto con portadores farmacéuticamente aceptables.

El RIC para su uso según la invención se administra preferiblemente como régimen de acondicionamiento en una terapia que comprende medidas adicionales, tales como trasplante de células madre, particularmente trasplante de células madre autólogas o alogénicas, más particularmente trasplante de células madre autólogas. El radioinmunoconjugado terapéutico se administra preferiblemente al paciente 6-16 días, preferiblemente 6-12 días, antes del trasplante de células madre.

En una realización preferida adicional, el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, según la presente invención no implica la administración de un agente antitumoral adicional, tal como melfalán, o un agente inmunosupresor al menos cuatro semanas antes y/o después del trasplante de células madre.

En una realización preferida adicional, el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, según la presente invención es para administración a un paciente que fue tratado con dosis altas de melfalán seguido de un trasplante de células madre pero tuvo progresión de la enfermedad.

En una realización preferida adicional, el RIC terapéutico para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, según la presente invención es para administración a un paciente que fue tratado con terapia de inducción, por ejemplo, Velcade, dexametasona, talidomida; o Velcade, dexametasona, ciclofosfamida; o Velcade, dexametasona; o melfalán, prednisona; o pomalidomida, dexametasona, pero tuvo progresión de la enfermedad.

En una realización preferida adicional, el RIC terapéutico para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, según la presente invención es para administración a un paciente que no es apto para HD de melfalán previo al HSCT.

Los protocolos terapéuticos, particularmente para la terapia de enfermedades asociadas con la médula ósea tales como amiloidosis AL, pueden comprender las etapas de:

- (a) administrar opcionalmente un RIC de obtención de imágenes al paciente,
- (b) administrar un RIC terapéutico al paciente, y
- (c) trasplantar células madre autólogas o alogénicas.

Los protocolos terapéuticos, en particular para la terapia de enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, pueden consistir en las etapas de:

(a) administrar opcionalmente un RIC de obtención de imágenes al paciente,

(b) administrar un RIC terapéutico al paciente,

5 (c) administrar opcionalmente antibióticos, y

(d) trasplantar células madre autólogas o alogénicas.

Los protocolos terapéuticos, particularmente para la terapia de enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, pueden comprender las etapas de:

(a) administrar opcionalmente un RIC de obtención de imágenes al paciente,

10 (b) administrar un RIC terapéutico al paciente,

(c) administrar opcionalmente antibióticos, antimicóticos y/o virustáticos, y

(d) trasplantar células madre autólogas o alogénicas.

Los antibióticos según la presente invención pueden ser fluoroquinolona, ciprofloxacina (Cipro), levofloxacina (Levaquin/Quixin), gatifloxacina (Tequin), moxifloxacina (Avelox), ofloxacina (Ocuflor/Floxin/Floxacin), norfloxacina (Noroxin).

15

Los virustáticos según la presente invención pueden ser aciclovir, ganciclovir o valganciclovir.

Los antimicóticos usados según la presente invención pueden ser fluconazol, anfotericina B, nistatina, natamicina, rimocidina, filipina, candicina, hamicina, perimicina, dermostatina.

Los protocolos terapéuticos preferidos, particularmente para la terapia de enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, comprenden las etapas de

20

(a) administrar opcionalmente un RIC de obtención de imágenes a un paciente, particularmente 2-10 días, más particularmente 2-8 días, antes de la etapa (b),

(b) administrar un RIC terapéutico al paciente, particularmente 6-16, más particularmente 12-16 días, antes de la etapa (c), y

25 (c) trasplantar células madre autólogas o alogénicas.

Un protocolo terapéutico particularmente preferido para la terapia de enfermedades asociadas con la médula ósea, particularmente amiloidosis AL, comprende las etapas de

(i) administrar opcionalmente un RIC de obtención de imágenes del anticuerpo BW 250/183 con ¹¹¹In a un paciente, particularmente 2-10 días, más particularmente 2-8 días, antes de la etapa (ii),

30 (ii) administrar un RIC terapéutico del anticuerpo BW 250/183 con ⁹⁰Y al paciente, particularmente 6-16 días, más particularmente 12-16 días, antes de la etapa (iii), y

(iii) trasplantar células madre autólogas o alogénicas.

Sorprendentemente, se descubrió que para el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, no es necesaria la administración de ningún agente antitumoral adicional, tal como melfalán, o un agente inmunosupresor para el acondicionamiento de la médula ósea. Por tanto, el tratamiento de tales enfermedades con tan sólo un radioinmunoconjugado como agente acondicionador minimiza o incluso evita cualquier efecto secundario típicamente asociado con el acondicionamiento de referencia con agentes antitumorales y/o inmunosupresores. La presente invención permite el tratamiento de pacientes con amiloidosis AL no aptos para el trasplante.

35

Además, se descubrió sorprendentemente que los pacientes que padecían enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, que fueron tratados con altas dosis de melfalán seguido de un trasplante de células madre, pero tuvieron progresión de la enfermedad, podían ser tratados con un radioinmunoconjugado terapéutico y el posterior trasplante de células madre según la invención.

40

También se descubrió que los pacientes que padecían enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, que fueron tratados con terapia de inducción pero tuvieron progresión, podían tratarse con un radioinmunoconjugado terapéutico y el posterior trasplante de células madre según la invención.

45

La invención se explicará con más detalle mediante los siguientes ejemplos.

Figuras

Figura 1. Preparación del inmunoconjugado CHX-A"-DTPA-anticuerpo monoclonal anti-CD66.

5 Figura 2. Diagrama de flujo del procedimiento de radiomarcaje para el producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ¹¹¹In.

Figura 3. Diagrama de flujo del procedimiento de radiomarcaje para el producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ⁹⁰Y.

Figura 4. Composición del producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ⁹⁰Y.

10 Figura 5. Imágenes gammagráficas secuenciales de todo el cuerpo después de la infusión del producto terminado de anticuerpo anti-CD66 marcado con [¹¹¹In].

Figura 6a. Imágenes de gammacámara después de la infusión del producto terminado de anticuerpo anti-CD66 marcado con [¹¹¹In].

Figura 6b. Imágenes de radiación de frenado después de la infusión del producto terminado de anticuerpo anti-CD66 marcado con [⁹⁰Y].

15 Figura 7. Respuesta de CLL del paciente después del tratamiento con anticuerpo anti-CD66 marcado con ⁹⁰Y.

Ejemplos

Materiales

Componente de unión a CD66

Peso molecular y fórmula

20 El anticuerpo monoclonal IgG1 kappa murino anti-CD66 BW 250/183 es monomérico con un peso molecular (PM) de proteína de 150 kDa y está compuesto por cadenas pesadas y ligeras de IgG del PM esperado (aproximadamente 50 y 25 kDa, respectivamente). El anticuerpo también se conoce de la siguiente manera:

Nombre según la DCI: besilesomab

Nombre químico: anticuerpo monoclonal BW 250/183

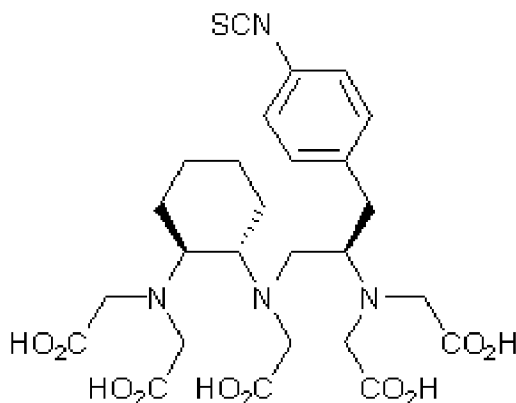
25 Nombre de código de laboratorio: AcM BW 250/183

Número de registro de CAS: 537694-98-7

Quelante

Quelante NCS-CHX-A"-DTPA

30 El quelante bifuncional sintético usado para el evento de conjugación covalente en el anticuerpo es sintetizado por Macrocyclics (1309 Record Crossing, Dallas, TX 75235, EE. UU.). El nombre de la IUPAC es ácido 2,2'-(2-(((S)-1-(bis(carboximetil)amino)-3-(4-isotiocianatofenil)propan-2-il)(carboximetil)amino)propilazanodil)diacético, también conocido como ácido isotiocianato-(R)-2-amino-3-(fenil)propil)trans-(S,S)-ciclohexano-1,2-diaminopentaacético (abreviado como ITC-CHX-A"-DTPA o ITC-Bn-CHX-A"-DTPA). El quelante de bajo PM (PM: 704 Da) tiene la siguiente fórmula química C₂₆H₃₄N₄O₁₀S.3HCl y se presenta como un polvo sólido blanquecino.



Preparación del radioinmunoconjugado

El tamaño del lote para el fármaco CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 con n.º de lote AB012 fue de 122 ml (355 mg), correspondiente a un volumen de trabajo de 152 ml (426 mg) de la preparación inicial de anticuerpo monoclonal AcM anti-CD66 250/183 (Orpegen Pharma GmbH o Glycotope Biotechnology GmbH, Alemania o Celonic, Alemania). El tamaño del lote para el fármaco CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 con n.º de lote AB013 fue de 250 ml (775 mg), correspondiente a un volumen de trabajo de 376 ml (1051 mg) de la preparación inicial de anticuerpo monoclonal AcM anti-CD66 250/183 (Orpegen Pharma GmbH).

El procedimiento de fabricación y los controles durante el procedimiento llevados a cabo se describen en la figura 1.

a) Descongelación de materiales

La primera etapa del procedimiento es descongelar el número específico de viales de AcM anti-CD66 especificado en el registro del lote. El AcM se descongela a temperatura ambiente en una campana de flujo laminar (LFH) antes de combinar los viales en un único tubo Falcon estéril. Se toma una muestra de QC durante el procedimiento para realizar un análisis de exclusión molecular para confirmar que el AcM es predominantemente monomérico y se informan los resultados.

El quelante ITC-CHX-A"-DTPA se retira del congelador y se deja calentar a temperatura ambiente durante un mínimo de 1 hora a temperatura ambiente.

b) Ultrafiltración de flujo cruzado de AcM - Diafiltración en disolución de carbonato de sodio 0,1 M, pH 9,0

La etapa de procesamiento principal para la producción del procedimiento de fármaco es la etapa de ultrafiltración/diafiltración (UF/DF) de flujo cruzado. Estos cartuchos son desechables, de un solo uso y están disponibles en varios cortes de peso molecular diferentes para su procesamiento (Spectrum Laboratories, EE. UU.). El cartucho y el aparato de UF/DF están preacondicionados para eliminar el glicerol según lo recomendado por el fabricante antes de esterilizarlos usando un ciclo de autoclave validado antes de su uso. En general, la etapa de UF/DF se realiza para filtrar, diafiltrar (intercambio de tampón) y concentrar el producto según especificaciones predeterminadas. El cartucho de fibra hueca de corte de PM de 50 kDa funciona dentro de parámetros operativos definidos (tales como presiones transmembrana, velocidad de baja cizalladura) que permiten la retención del AcM, al tiempo que permiten que las sales y otras impurezas de bajo peso molecular pasen a su través. El cartucho y el conjunto son un procedimiento cerrado, que funciona dentro de una campana de flujo laminar de grado A en un fondo de sala limpia de grado B.

Antes del procesamiento, se añade una disolución de DTPA 0,01 M 1:10 vol:vol a la disolución de AcM en la LFH (es decir, 1 ml de DTPA por 10 ml de AcM). El AcM se mezcla suavemente y se incuba a temperatura ambiente durante 30 minutos. La disolución de AcM se introduce en el conjunto de flujo cruzado de fibra hueca en la LFH antes de diafiltrar el AcM con un mínimo de 5 volúmenes de carbonato de sodio 0,1 M, pH 9,0 hasta que el pH esté dentro del intervalo aceptable. Se toman muestras de QC durante el procedimiento para confirmar que el pH está dentro del intervalo de pH de 8,9-9,2 requerido para la conjugación. El AcM se recupera del cartucho de fibra hueca en un tubo Falcon estéril. Se toma una muestra de QC durante el procedimiento para monitorizar la concentración de AcM mediante la DO 280 nm.

c) Conjugación de AcM con quelante

La cantidad de quelante ITC-CHX-A"-DTPA requerida se calcula de la siguiente manera: 1 mg por cada 5 mg de AcM a conjugar. El quelante se pesa cuidadosamente en un recipiente estéril antes de disolverlo en DMSO (disolver 1 mg de quelante por 20 µl de DMSO). El quelante ITC-CHX-A"-DTPA se añade cuidadosamente mediante

mezclado constante al AcM (se usa un pequeño volumen de tampón carbonato para eliminar cualquier ligando restante del recipiente para añadirlo al AcM). Se reemplaza la tapa en el recipiente de AcM y la disolución se mezcla muy suavemente mediante rotación manual. El tubo se etiqueta y se deja a temperatura ambiente durante 2 horas antes de la incubación durante la noche a de +2 a 8 °C.

5 d) Ultrafiltración de flujo cruzado de AcM - Diafiltración/concentración en tampón acetato

En una LFH, la disolución de AcM se diafiltra en una disolución de acetato de amonio 0,1 M, pH 6, hasta que la eficiencia del radiomarcage de QC durante el procedimiento alcanza > 97 %. Una vez que la eficiencia del radiomarcage es > 97 %, el AcM se recupera del aparato de flujo cruzado de fibra hueca en un tubo Falcon estéril liberando la presión transmembrana. Se toma una muestra de QC durante el procedimiento para determinar la concentración de AcM mediante la DO 280 nm y, si es necesario, el AcM se diluye adicionalmente con el tampón acetato hasta dentro del intervalo aceptable de 2,5-3,3 mg/ml. La disolución final de AcM se almacena a de +2 a 8 °C.

e) Esterilización por filtración y llenado del fármaco en criviales

En una LFH, en un fondo de grado B, el producto se esteriliza por filtración usando un filtro de 0,22 µm en un tubo Falcon estéril. Se somete a prueba la integridad del filtro para garantizar que se encuentra dentro del intervalo aceptable del punto de burbuja. En una LFH, en un fondo de grado B, el producto se dispensa asépticamente en criviales estériles usando una pipeta de volumen fijo esterilizada en autoclave. Durante el procesamiento, los operarios realizan E.M para incluir recuentos continuos de partículas de aire. Los viales se cierran y etiquetan de acuerdo con las BPF antes del almacenamiento a menos de -70 °C.

20 El CHX-A"-DTPA-anticuerpo monoclonal anti-CD66 quelado bifuncional permanece como una IgG1 monomérica del tamaño de PM y composición esperados.

Se ha demostrado que la preparación mantiene su especificidad contra el antígeno CD66 mediante un ensayo de inmunorreactividad.

25 El CHX-A"-DTPA-anticuerpo monoclonal anti-CD66 es fácilmente soluble en agua y aparece como una disolución transparente e incolora sin partículas visibles cuando se disuelve en tampón acetato de amonio, pH 6,0.

Producto terminado

Producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ¹¹¹indio (comparativo)

30 El producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ¹¹¹indio se fabrica en unidades de dosificación única para pacientes individuales. El producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ¹¹¹indio se preparará con un exceso de ¹¹¹indio hasta un máximo de 300 MBq para permitir pérdidas de actividad residual durante la fabricación y el retraso antes de la infusión. Se administrará a cada paciente una dosis de 185 MBq ± 10 %. El volumen a administrar se calculará en función de la concentración de radiactividad en el vial. El producto radiomarcado residual volverá a medirse y se compara con la actividad original para permitir un registro preciso de la actividad real administrada al paciente. El diagrama de flujo del procedimiento de radiomarcage para el producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ¹¹¹indio se muestra en la figura 2.

El producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ¹¹¹indio es un anticuerpo monoclonal conjugado con un quelante bifuncional, marcado con el radionucleido ¹¹¹indio.

Los dos componentes de este conjugado de anticuerpo radiomarcado son:

1) CHX-A"-DTPA-anticuerpo monoclonal anti-CD66 ("fármaco")

40 2) Radionucleido ¹¹¹indio

45 El radiomarcage del conjugado de anticuerpo monoclonal se prepara individualmente para cada paciente por parte de los departamentos de radiofarmacia de cada centro, siguiendo las directrices de BPF, y se suministra como una disolución estéril, libre de pirógenos y partículas para infusión intravenosa que contiene besilesomab (1,0-1,5 mg) diluido hasta 8,0 ml con disolución de cloruro de sodio al 0,9 % BP, marcada con indio-111 para dar una concentración radiactiva final de aproximadamente 23 MBq/ml (intervalo aceptable: 20-30 MBq/ml) al final de la síntesis. El volumen de cada lote de producto terminado será de aproximadamente 8-10 ml al final de la fabricación. La dosis del paciente se presentará en una jeringa de 10 ml.

50 Alternativamente, el radiomarcage del conjugado de anticuerpo monoclonal con ¹¹¹In puede realizarse de forma centralizada en un centro de fabricación de radiofármacos y el producto terminado se enviará a 4-8 °C al centro de trasplante respectivo que trata al paciente.

Producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ⁹⁰itrio

El producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ^{90}Y se fabrica en unidades de dosificación única para pacientes individuales. La composición de cada lote/unidad de dosificación única se presenta en la figura 4. El producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ^{90}Y se prepara con un exceso de aproximadamente el 25 % de ^{90}Y para permitir pérdidas de actividad residual durante la fabricación. La dosis real administrada al paciente dependerá del peso corporal magro del paciente y de la actividad prescrita según el protocolo. El volumen a administrar se calcula en función de estos factores junto con la concentración de radiactividad en el vial. El producto radiomarcado residual vuelve a medirse y se compara con la actividad original para permitir un registro preciso de la actividad real administrada al paciente. En la figura 3 se muestra el diagrama de flujo del procedimiento de radiomarcado para el fármaco CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ^{90}Y .

El radiomarcado del conjugado de anticuerpo monoclonal se prepara individualmente para cada paciente por parte de los departamentos de radiofarmacia de cada centro, siguiendo las pautas de BPF, y se suministra como una disolución estéril, libre de pirógenos y partículas para infusión intravenosa que contiene CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 (1,0-1,5 mg) diluido hasta aproximadamente 8,0 ml con disolución de cloruro de sodio al 0,9 % BP, marcada con ^{90}Y para dar una concentración radiactiva final en el intervalo de 200-500 MBq/ml al final de la síntesis.

Alternativamente, el radiomarcado del conjugado de anticuerpo monoclonal con ^{90}Y puede realizarse de forma centralizada en un centro de fabricación de radiofármacos y el producto terminado se enviará a 4-8 °C al centro de trasplante respectivo que trata al paciente.

Propiedades de absorción (comparativo)

El radioinmunoconjugado de anticuerpo anti-CD66 radiomarcado con ^{111}In se administró por vía intravenosa en una solución acuosa salina tamponada. Las imágenes secuenciales con gammacámara demuestran una fase sanguínea inicial y la captación por la médula ósea en el plazo de 4-6 horas tras la infusión (figura 5).

Distribución

La biodistribución *in vivo* en seres humanos muestra una captación consistente por el componente celular de la médula roja, típicamente en el esqueleto axial (vértebras, pelvis), las costillas, el cráneo y la región proximal de los huesos largos. Las imágenes de gammagrafía después de la infusión de [^{111}In]-anticuerpo anti-CD66 se muestran en la figura 6a y las imágenes de radiación de frenado después de la infusión de [^{90}Y]-anticuerpo anti-CD66 se muestran en la figura 6b, lo que indica una biodistribución similar con cada forma radiomarcada del anticuerpo anti-CD66.

Objetivos del estudio

El objetivo principal del estudio es determinar la toxicidad asociada con el uso de anticuerpo anti-CD66 marcado con [^{90}Y] como único acondicionamiento antes del trasplante de células madre autólogas en pacientes con amiloidosis AL. La determinación de la toxicidad se mide mediante los criterios CTCAE versión 4.0 y el injerto de células madre y establece la dosis de radiación máxima tolerada (MTD) en tres niveles de actividad de radiación infundida.

Además, el estudio permite la evaluación de la respuesta clonal (medida mediante el ensayo de CLL en suero) mediante el uso de métodos validados establecidos de citometría de flujo para medir el cambio en la población de células plasmáticas malignas. También se revisan la respuesta a la enfermedad, la recuperación cardíaca, el tiempo hasta la progresión y la supervivencia global, al mismo tiempo que se determina el estado del injerto de los pacientes.

Finalmente, el estudio permite la evaluación del modelo de dosimetría desarrollado previamente en ensayos de fase I y II en este grupo de pacientes.

Criterios de valoración/medidas del resultado

La toxicidad del anticuerpo monoclonal anti-CD66 marcado con [^{90}Y] como único régimen de acondicionamiento para el trasplante de células madre autólogas en pacientes con amiloidosis AL sistémica se determina usando los criterios CTCAE versión 4.0.

La respuesta clonal usando el AcM anti-CD66 radiomarcado con [^{90}Y] como radioterapia dirigida se mide mediante un ensayo de CLL en serie. Las respuestas se resumirán según lo recomendado en las directrices de consenso para la realización y notificación de ensayos clínicos en amiloidosis sistémica de cadenas ligeras.

La respuesta clonal al AcM anti-CD66 radiomarcado con [^{90}Y] siguiendo el cambio en la población de células plasmáticas malignas en la médula ósea se determina usando métodos validados establecidos de citometría de flujo.

La respuesta a la enfermedad y la recuperación cardíaca se determinan midiendo los niveles de NT-proBNP antes y después de la terapia (D100).

Se evalúa el impacto del uso de AcM anti-CD66 marcado con [^{90}Y] en el tiempo hasta la progresión y la

supervivencia global.

Se determina la utilidad del modelo de dosimetría desarrollado en ensayos previos de fase I y II usando el mismo anticuerpo anti-CD66 radiomarcado y con obtención de imágenes/dosimetría posterior al anticuerpo anti-CD66 marcado con ^{90}Y .

- 5 El injerto de células madre autólogas está determinado por el tiempo hasta la recuperación de plaquetas $> 50 \times 10^9/\text{l}$ y neutrófilos $> 0,5 \times 10^9/\text{l}$ (criterios EBMT).

Se evalúa la proporción de pacientes que forman anticuerpos humanos anti-IgG murina o anticuerpos de inmunoglobulina humana anti-IgG de ratón (HAMA) después de la exposición al AcM anti-CD66 en el contexto de un trasplante de células madre autólogas para la amiloidosis AL.

10 Diseño del ensayo

Este fue un estudio multicéntrico de fase I/IIa abierto que evaluó el uso de un anticuerpo anti-CD66 radiomarcado en pacientes con amiloidosis AL con respecto a

1) Seguridad y toxicidad.

- 15 2) Respuesta a la enfermedad. La progresión desde un nivel de dosis al siguiente dependerá del perfil de toxicidad demostrado, pero no de la respuesta a la enfermedad. Los pacientes serán reclutados de entre aquellos que acuden al Centro Nacional de Amiloidosis para el diagnóstico y la monitorización de su enfermedad y aquellos en los que la terapia de dosis altas sería una opción de tratamiento.

Hay tres niveles de tratamiento, que representan niveles crecientes de actividad de radiación infundida:

1. 30,0 MBq/kg de peso corporal magro de anticuerpo anti-CD66 murino radiomarcado con ^{90}Y
 20 2. 40,0 MBq/kg de peso corporal magro de anticuerpo anti-CD66 murino radiomarcado con ^{90}Y
 3. 45,0 MBq/kg de peso corporal magro de anticuerpo anti-CD66 murino radiomarcado con ^{90}Y

Toxicidad

- 25 Los pacientes serán reclutados secuencialmente y recibirán tratamiento según el nivel de dosis activo en ese momento. Como factor de seguridad, debe haber transcurrido un intervalo equivalente a D+30 tras el trasplante antes de que el siguiente paciente sea tratado con el mismo nivel de dosis y D+60 tras el trasplante entre cambios de niveles de dosis (aunque los pacientes pueden ser reclutados y dar su consentimiento antes de que el paciente anterior alcance D+30 o D+60 tras el trasplante), suponiendo que no se registran toxicidades. Si ningún paciente muestra toxicidad, se reclutarán un máximo de 3 pacientes con ese mismo nivel de dosis y podrá comenzarse con el siguiente nivel de dosis (después del intervalo equivalente a D+60). Si 1 paciente desarrolla una toxicidad definida, el reclutamiento continúa al mismo nivel de dosis, pero hasta un máximo de 6 pacientes al mismo nivel de dosis. Si 2 o
 30 más pacientes de los tres pacientes iniciales tratados con el mismo nivel de dosis desarrollan toxicidad, el estudio se detiene. Si, en la revisión, el comité independiente de monitorización de datos (IDMC) determina que las toxicidades no se deben directamente al anticuerpo radiomarcado, el ensayo puede continuar con el mismo nivel de dosis, pero ampliado hasta un máximo de 6 pacientes. Si el IDMC determina que las toxicidades están relacionadas
 35 directamente con el anticuerpo radiomarcado, el ensayo se detiene y el nivel de actividad de radiación infundida se establece como MTD. Después de seis pacientes, si más de 2 pacientes experimentan toxicidades atribuidas por parte del IDMC al anticuerpo radiomarcado, el ensayo se detendrá; de lo contrario, puede continuar con el siguiente nivel de dosis (tal como se describió anteriormente).

- 40 Si, en opinión del IDMC, no ha habido toxicidades específicas en ningún nivel de actividad ("dosis") infundida, el nivel de actividad infundida final puede ampliarse a 6 pacientes para proporcionar información adicional sobre la toxicidad y la respuesta a la enfermedad.

Respuesta a la enfermedad

- 45 La respuesta a la enfermedad (cambio en la cadena ligera libre (CLL)) se determinará en cada paciente durante el período de estudio. Debido a las condiciones comórbidas que pueden afectar a los pacientes con amiloidosis AL, no es apropiado demostrar una MTD clara (es decir, mediante aumentos adicionales en la actividad de radiación infundida) si se logran buenas respuestas clínicas a la enfermedad, tal como indica la reducción en CLL y la población de células plasmáticas clonales después de la terapia y el trasplante. La radiación infundida óptima produciría una tasa de CR en todos los pacientes sin toxicidad demostrable. Los resultados del estudio de fase I se usarán para informar el formato de ensayos adicionales (fase II), que se diseñarían para determinar la actividad de
 50 radiación infundida óptima y, por tanto, la dosis de radiación estimada de la médula ósea en este grupo de pacientes específico. Si no se demuestra toxicidad en ningún nivel de actividad infundida, la ampliación del tercer nivel a 6 pacientes proporcionará evidencias adicionales de la respuesta a la enfermedad.

Pacientes

Todos los pacientes con amiloidosis AL sistémica que cumplan con los criterios de elegibilidad para ASCT en amiloidosis y tengan una indicación de trasplante de células madre autólogas como opción de tratamiento preferida serán aptos para este estudio.

5 *Criterios de inclusión*

Los pacientes con las siguientes características son aptos para este estudio:

- $\geq$ de 18 años
- diagnóstico de amiloidosis AL sistémica, ya sea como diagnóstico nuevo o como enfermedad recurrente
- discrasia de células plasmáticas clonales medible
- 10 • disfunción orgánica o síndrome orgánico relacionado con el amiloide
- esperanza de vida estimada de al menos 6 meses (tal como se definió al ingresar al ensayo)
- suficientes células madre para dos procedimientos de trasplante
- celularidad de la médula ósea (MO) $> 20\%$
- apto para ASCT en amiloidosis AL, definido como el cumplimiento de todos los criterios siguientes:
 - 15 ○ estado de rendimiento ECOG de 0 ó 1
 - troponina-T cardíaca $< 0,07$ g/l
 - clase de insuficiencia cardíaca según la NYHA < 3
 - no más de 3 órganos afectados por amiloidosis según las directrices de consenso
 - aclaramiento de creatinina o TFG isotópica ≥ 30 ml/min
 - 20 ○ bilirrubina $\leq 1,5$ veces y fosfatasa alcalina ≤ 3 veces el límite superior de la normalidad
 - AST o ALT $< 2,5$ veces límite superior del intervalo normal
 - grosor medio de la pared del ventrículo izquierdo < 16 mm por ecocardiografía
 - ausencia de neuropatía autonómica relacionada con el amiloide clínicamente importante
 - ausencia de hemorragia gastrointestinal relacionada con el amiloide clínicamente importante
 - 25 • capaz de proporcionar consentimiento informado por escrito
 - las mujeres en edad de procrear deben usar métodos anticonceptivos adecuados
 - dispositivo intrauterino (DIU)
 - anticoncepción hormonal (píldora, inyección anticonceptiva, etc.)
 - anticoncepción de doble barrera (preservativo y capuchón oclusivo, por ejemplo, diafragma o capuchón cervical con espermicida)
 - 30 ○ abstinencia verdadera (esto se define como abstenerse de mantener relaciones coitales heterosexuales después de recibir [^{111}In] en la visita de dosimetría y obtención de imágenes hasta la visita final del estudio)

Criterio de exclusión

Los pacientes con las siguientes características no son aptos para este estudio:

- 35 • mieloma múltiple sintomático manifiesto
- amiloidosis de tipo desconocido o distinta de AL
- amiloidosis AL localizada (en la que los depósitos de amiloide se limitan a un único órgano típico, por ejemplo la vejiga o la laringe, en asociación con un trastorno proliferativo clonal dentro de ese órgano)
- depósitos de amiloide AL triviales o incidentales en ausencia de un síndrome orgánico relacionado con el amiloide

significativo (por ejemplo, síndrome del túnel carpiano aislado).

- insuficiencia cardíaca de clase III o IV según la NYHA
 - afectación del hígado por amiloide que provoca bilirrubina > 1,5 veces el límite superior de la normalidad
 - neoplasias malignas activas concurrentes, excepto carcinoma de células basales de la piel extirpado quirúrgicamente u otros carcinomas *in situ*
 - embarazada, lactante o que no desea usar un método anticonceptivo adecuado
 - intolerancia/sensibilidad a cualquiera de los fármacos del estudio
 - anticuerpos humanos anti-IgG murina o anticuerpos de inmunoglobulina humana anti-IgG de ratón (HAMA) positivos conocidos
- 10 • incapaz de proporcionar consentimiento informado por escrito
- involucrado en otro ensayo de IMP

Evaluación del ensayo

Tratamiento - Visita 1

Dosimetría y obtención de imágenes

15 Premedicación de pacientes antes de la administración del RIC

Los pacientes que reciben anticuerpos de origen animal experimentan ocasionalmente síntomas tales como fiebre, escalofríos, mialgia, incluso cuando carecen de anticuerpos contra especies específicas, por ejemplo, HAMA. La experiencia clínica acumulada con anticuerpo anti-CD66 indica que los efectos secundarios debidos a la infusión del anticuerpo son raros, y se notifica que ocurren en 0,5-1,0 por cada 10.000 infusiones.

- 20 Deben estar disponibles inmediatamente instalaciones de reanimación; esto incluye aparatos de asistencia respiratoria: suministro de oxígeno, ventilación, mascarilla y bolsa. La adrenalina debe estar disponible y lista para administrarse.

- 25 Todos los sujetos recibirán una premedicación 30-60 minutos antes de la infusión de anticuerpo anti-CD66 radiomarcado que consiste en 4 mg de clorfeniramina y 1 g de paracetamol, ambos por vía oral, se evitará el uso de esteroides (por ejemplo, hidrocortisona) a menos que se presenten síntomas significativos, en cuyo caso se administrarán entre 50 y 100 mg de hidrocortisona. Si el uso de anticuerpo anti-CD66 radiomarcado se asocia con síntomas en la mayoría de los sujetos, se revisará el uso de esteroides como parte de la premedicación.

Administración de RIC marcado con [¹¹¹In] y dosimetría (2-4 semanas después de la recogida de células madre) - producto terminado A

- 30 Se administrará una pequeña dosis para la obtención de imágenes de anticuerpo anti-CD66 marcado con [¹¹¹In], de aproximadamente 185 MBq.

Tratamiento - Visita 2

Administración de RIC marcado con [⁹⁰Y] (día -14)

- 35 La infusión de anticuerpo anti-CD66 marcado debe realizarse al menos una semana después de la dosimetría y se realizará a través de una vía venosa central o, si no se ha insertado, una cánula periférica con una velocidad de infusión inicial de 5 mg/h durante los primeros 5 minutos; si se tolera, la velocidad puede aumentarse a 10 mg/h. Es posible que sea necesario reducir la velocidad o suspender la infusión si el sujeto experimenta cualquier síntoma significativo, tal como opresión en la garganta, disnea, escalofríos moderados o escalofríos intensos y de comienzo brusco. La vía se lavará con 10-20 ml de solución salina normal una vez finalizada la infusión.

- 40 A estas velocidades de infusión, la infusión de un total de 2 mg de anticuerpo marcado tardará 12 minutos.

Tratamiento - Visita 3 (del día -7 al día 0 después de [⁹⁰Y])

Los pacientes serán revisados y se les iniciará el tratamiento profiláctico con antibióticos (250 mg de ciprofloxacina dos veces al día, 400 mg de aciclovir dos veces al día y 100 mg de fluconazol una vez al día).

Reinfusión de células madre autólogas (día 0)

- 45 Todos los pacientes serán trasplantados en los centros de trasplantes usando instalaciones de atención hospitalaria

o ambulatoria, según corresponda. Según la experiencia de los ensayos de fase I y II que usan el mismo anticuerpo anti-CD66 marcado con ^{90}Y , se prevé que los recuentos de sangre periférica del paciente disminuirán a partir de D7 después de la infusión de ^{90}Y , alcanzando un nadir en D8-10 [equivalente a de D-6 a D-4 previo al trasplante]. Luego, los pacientes serán admitidos como pacientes hospitalizados si aún no reciben tratamiento. Después de su trasplante de células madre (día 0), el equipo del estudio los evaluará diariamente para detectar acontecimientos adversos y la necesidad adecuada de antibióticos o productos sanguíneos adicionales. Los pacientes serán dados de alta del hospital después de un injerto hematopoyético adecuado y la recuperación de cualquier infección y si son independientes del soporte de productos sanguíneos. Se realizará seguimiento al paciente después del alta el día 30 y el día 100. El seguimiento del ensayo finalizará el día 100 y el seguimiento continuará fuera del ensayo según la práctica médica convencional.

El tiempo hasta la recaída o progresión de la enfermedad y el tiempo hasta el siguiente tratamiento no se incluirán como parte de la evaluación formal dentro del contexto del ensayo. Sin embargo, todos los pacientes sometidos a ASCT por amiloidosis AL reciben de forma rutinaria un seguimiento a largo plazo por parte de su consultor remitente y también son revisados periódicamente.

Resultados

Los primeros tres pacientes con amiloidosis AL que habían sido tratados con dosis altas de melfalán y ASCT posterior y que tuvieron una recaída fueron tratados con 30 MBq/kg de producto terminado marcado con ^{90}Y después de una dosimetría adecuada con producto terminado marcado con ^{111}In .

Los tres pacientes no mostraron ningún efecto secundario durante el acondicionamiento con el producto terminado marcado con ^{90}Y , no se observaron reacciones adversas graves (SAES) ni sospechas de reacciones adversas graves inesperadas (SUSAR). En los tres pacientes se observó una disminución en la cadena ligera libre clonal. En un caso, se observó una respuesta completa con una normalización sostenida de CLL y una mejora de los síntomas clínicos y los parámetros de enfermedad de la amiloidosis AL. El ensayo recibió la aprobación del Comité de Datos y Seguridad para continuar con el siguiente nivel de actividad infundida.

Estos hallazgos son absolutamente únicos e inesperados. La inducción de la regresión de la enfermedad tal como indica la reducción de CLL sin efectos secundarios es un resultado sobresaliente, que brinda un beneficio importante a los pacientes que padecen amiloidosis AL.

La figura 7 muestra la concentración de cadena ligera libre en suero en un paciente sometido a tratamiento con RIC a una dosis de 30 MBq/kg a lo largo del tiempo. La concentración de CLL, que es un biomarcador fiable de amiloidosis AL, disminuye desde 80 mg/l hasta aproximadamente 25 mg/l en un mes. El nivel de CLL se mantiene durante varios meses entre 10 y 30 mg/l, que es un valor típico en un ser humano sano. Un paciente tuvo una remisión completa, que se analizó mediante normalización de cadenas ligeras libres, biopsia de médula ósea y determinación de la enfermedad mínima residual. El paciente ha estado en remisión completa bioquímica durante 15 meses después del trasplante.

Los otros dos pacientes también mostraron una disminución significativa del nivel de CLL después del tratamiento con RIC.

REIVINDICACIONES

1. Radioinmunoconjugado (RIC) para su uso como medicamento en el acondicionamiento de la médula ósea, particularmente antes del trasplante de células madre, en el que el RIC comprende un componente de unión a CD66 y un radionucleido terapéuticamente eficaz,

en el que el componente de unión a CD66 es un anticuerpo,

en el que el radionucleido se une al componente de unión a CD66 a través de un agente quelante, que se une covalentemente al componente de unión a CD66, y

en el que el RIC terapéutico es para la administración a un paciente que no es apto para el tratamiento con dosis altas de melfalán previo al HSCT y/o a un paciente que fue tratado con terapia de inducción pero tuvo progresión de la enfermedad.

2. Radioinmunoconjugado (RIC) para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, concretamente amiloidosis AL, en el que el RIC comprende un componente de unión a CD66 y un radionucleido terapéuticamente eficaz, en el que el componente de unión a CD66 es un anticuerpo y en el que el radionucleido se une al componente de unión a CD66 a través de un agente quelante, que se une covalentemente al componente de unión a CD66.

3. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según la reivindicación 1 ó 2, en el que el radionucleido es itrio-90 (^{90}Y).

4. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el componente de unión a CD66 es el anticuerpo BW 250/183.

5. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según las reivindicaciones 1-4, en el que el radionucleido se une al componente de unión a CD66 a través de una estructura de fórmula

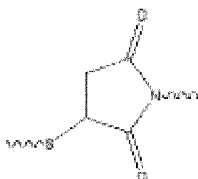
$$[(\text{agente quelante})-(\text{R}^1)_p-(\text{R}^2-\text{R}^3)_n]_m-(\text{componente de unión a CD66})$$

en la que n es 0 ó 1,

m es de 1 a 15,

p es 0 ó 1,

R^1 y R^3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-\text{NHCSNH}-$, $-\text{NHCONH}-$, $-\text{NHCOCH}_2\text{S}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{NH}-\text{NH}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{S}-$, $-\text{CONHNH}-$, $-\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{COONH}-$, $-\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2-$, $-\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{NH}-$, $-\text{CONH}-$, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{CO}-$, $-\text{COO}-$, $-\text{NH}-\text{O}-$, $-\text{CONHO}-$, $-\text{S}-(\text{CH}_2)_3\text{C}(\text{NH})\text{NH}-$, $-\text{NH}-\text{COO}-$, $-\text{O}-$ y



preferiblemente $-\text{NH}-\text{CS}-\text{NH}-$, y

R^2 se selecciona del grupo que consiste en alquileo C1-C18, C1-C18 ramificado, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_{10}-$, p -alquilfenileno, p -fenileno, m -fenileno, p -alquiloxifenileno, naftileno, $-\text{[CH}_2\text{CH}_2\text{O}]_x-$, $-\text{[CH}_2\text{CH}_2\text{SOCH}_2\text{CH}_2]_x-$, $-\text{[CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2]_x-$ o $-\text{[NHCHR}_4\text{CO}]_y-$, en las que x es de 1 a 200, y es de 1 a 20, y en la que R_4 se selecciona del grupo que consiste en H-, Me-, HSCH_2- , isopropilo, but-2-ilo, $\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2-$, bencilo, 1*H*-indol-3-il-metilo, HOCH_2- , HOOCCH_2- , $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})-$, $\text{HOOCCH}_2\text{CH}_2-$, 4-hidroxibencilo, $\text{H}_2\text{NCOCH}_2-$, $\text{H}_2\text{NCOCH}_2\text{CH}_2-$, 4-aminobut-1-ilo, 2-guanidinoetilo, 1*H*-imidazol-5-il-metilo y 2-metilprop-1-ilo.

6. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 4-5, en el que el agente quelante se selecciona del grupo que consiste en ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano- $\text{N,N',N'',N'''}-\text{tetraacético}$ (DOTA), ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano- $\text{N,N',N'',N'''}-\text{tetraacético}$ (TETA), ácido 1,4,7-triazonano- $\text{N,N',N''}-\text{triacético}$ (NOTA), ácido 2,2'-(2-(((1*S*,2*S*)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodii)diacético (ciclohexano-DTPA), ácido 2,2'-(2-(((1*R*,2*R*)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodii)diacético, ácido 2,2'-(2-(((1*S*,2*R*)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodii)diacético, ácido 2,2'-(2-(((1*R*,2*S*)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodii)diacético, ácido 2,2',2'',2'''-(2,2'-(1*S*,2*S*)-ciclohexano-1,2-diilbis((carboximetil)azanodii)bis(etano-2,1-diil))bis(azanotriil)tetraacético,

- ácido 2,2',2'',2'''-(2,2'-(1S,2R)-ciclohexano-1,2-diilbis((carboximetil)azanodiil)bis(etano-2,1-diil)bis(azanotriil)tetraacético, ácido (1R)-1-bencil-dietilentriaminopentaacético, ácido (1S)-1-bencil-dietilentriaminopentaacético, ácido (2R)-2-bencil-dietilentriaminopentaacético, ácido (2S)-2-bencil-dietilentriaminopentaacético, (2R)-2-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (2R)-2-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (2R)-2-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, (2R)-2-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, ácido 2,2'-((1R,2R)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1S,2S)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1R,2R)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1S,2S)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1R,2S)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1S,2R)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1R,2S)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido (2S)-2-bencil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido (2R)-2-bencil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido 6-bencil-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido 2-bencil-1,4,7-triazonano-N,N',N''-triacético, ácido bencil-3-metil-dietilenaminopentaacético (2B3M-DTPA), ácido (R)-2-amino-3-(fenil)propil)trans-(S,S)-ciclohexano-1,2-diamino-pentaacético (Bn-CHX-A"-DTPA) y sales y derivados de los mismos,
- particularmente ácido (R)-2-amino-3-(fenil)propil)trans-(S,S)-ciclohexano-1,2-diamino-pentaacético (Bn-CHX-A"-DTPA) y sales del mismo.
7. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el radionucleido se une al componente de unión a CD66 a través de la estructura componente de unión a CD66-NH-CS-NH-Bn-CHX-A"-DTPA.
 8. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que un RIC terapéutico se administra a una dosis $\geq$ de aproximadamente 10 MBq/kg de peso corporal magro (lbw), preferiblemente $\geq$ de aproximadamente 15 MBq/kg de lbw, más preferiblemente $\geq$ de aproximadamente 20 MBq/kg de lbw, todavía más preferiblemente $\geq$ de aproximadamente 25 MBq/kg de lbw, todavía más preferiblemente $\geq$ de aproximadamente 30 MBq/kg de lbw y todavía más preferiblemente $\geq$ de aproximadamente 35 MBq/kg de lbw, hasta 60 MBq/kg de lbw, preferiblemente hasta 45 MBq/kg de lbw.
 9. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 2-8, en el que el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, concretamente amiloidosis AL, comprende además el trasplante de células madre, particularmente el trasplante de células madre autólogas o alogénicas, más particularmente el trasplante de células madre autólogas, particularmente en el que el RIC terapéutico es para administración 6-16 días, preferiblemente 6-12 días, antes del trasplante de células madre y/o en el que el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, tales como amiloidosis AL, no implica la administración de un agente antitumoral adicional, tal como melfalán, o un agente inmunosupresor al menos cuatro semanas antes y/o después del trasplante de células madre.
 10. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 2-10, en el que el RIC terapéutico es para administración a un paciente que fue tratado con dosis altas de melfalán seguido de un trasplante de células madre pero tuvo progresión de la enfermedad y/o es para administración a un paciente que fue tratado con terapia de inducción pero tuvo progresión de la enfermedad.
 11. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 2-11, en el que el RIC terapéutico es para administración a un paciente que no es apto para el tratamiento con HD de melfalán previo al HSCT.
 12. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2-11, en el que el tratamiento de enfermedades asociadas con la médula ósea, concretamente amiloidosis AL, comprende las etapas de
 - (a) administrar opcionalmente un RIC de obtención de imágenes a un paciente, particularmente 2-10 días antes de la etapa (b), en el que el RIC de obtención de imágenes comprende particularmente un radionucleido de indio-111 (^{111}In),
 - (b) administrar un RIC terapéutico al paciente, particularmente 6-16 días antes de la etapa (c), y
 - (c) trasplantar células madre autólogas o alogénicas.

13. Radioinmunoconjugado (RIC) para el uso según las reivindicaciones 1, 3, 4-8 y 11, en el que el trasplante de células madre es autólogo o alogénico.

Figura 1

Flujo de procedimiento del fármaco CHX-A'-DTPA-anticuerpo monoclonal anti-CD66
Procesamiento: tiempo total = 3 días para hasta 1000 mg y no más de 300 ml de fármaco

Línea temporal	Etapas	Escala	Procedimiento	Pruebas durante el procedimiento
Día 1	Descongelar el AcM anti-CD66	Hasta 1000 mg en un volumen de 500 ml	Descongelar el AcM anti-CD66 a temperatura ambiente	Concentración mediante la DO Análisis de exclusión molecular para los agregados en el AcM
	Calentar el quelante hasta temperatura ambiente	No más de 200 mg de quelante	Dejar calentar hasta temperatura ambiente el quelante ITC-CHX-A'-DTPA	-
	Preacondicionar el AcM con disolución de DTPA	-	Añadir disolución de DTPA 0.01 M al AcM	-
	Ultrafiltración de flujo cruzado del AcM y diafiltración en disolución de carbonato	Hasta 5 diafiltraciones	Diafiltrar carbonato de sodio 0,1 M, pH 9,0 en disolución de AcM hasta un pH dentro del intervalo	pH
	Concentrar el AcM mediante ultrafiltración de flujo cruzado	No más de 200 ml de AcM	Concentrar el AcM hasta 5 mg/ml	Concentración mediante la DO
	Disolver el quelante ITC-CHX-A'-DTPA en DMSO	-	Pesar la cantidad requerida del quelante ITC-CHX-A'-DTPA (1 mg por cada 5 mg del AcM a conjugarse) y disolver en DMSO	Ninguna
	Conjugación del quelante ITC-CHX-A'-DTPA con el AcM	No más de 200 ml de AcM	Añadir ITC-CHX-A'-DTPA disuelto en DMSO al AcM. Incubar a TA durante 2 horas, luego durante la noche a 2-8 °C	Ninguna
Día 2	Diafiltrar en disolución de acetato de amonio mediante ultrafiltración de flujo cruzado	Un mínimo de 20 diafiltraciones	Diafiltrar el AcM conjugado en disolución de acetato de amonio 0,1 M, pH 6 hasta que la eficiencia de radiomarcado de QC durante el procedimiento alcanza > 97 %	Prueba de eficiencia de radiomarcado mediante CCF Concentración mediante la DO
	Recogida y recuperación del AcM conjugado	Hasta 200 ml de AcM	Recoger el AcM conjugado en un tubo Falcon estéril y diluir hasta el intervalo de concentración de anticuerpo requerido. Almacenar a de +2 a 8 °C	Prueba de integridad de fibra hueca
	Filtración de 0,2 µm y preparación de volumen final	Hasta 300 ml de AcM	Esterilizar por filtración el producto en un tubo Falcon estéril	Prueba de integridad de filtro Concentración mediante la DO
Día 3	Llenado aséptico en crioviales como fármaco final	Hasta 300 ml de AcM	En una LFH, en fondo de grado B, dispensar asépticamente el producto en crioviales usando una pipeta de volumen fijo esterilizada en autoclave. Cerrar los viales y etiquetar de acuerdo con las instrucciones en el registro de lotes	Recuento de particulados E.M durante el procedimiento Inspección visual Pruebas de QC final

Figura 2

Diagrama de flujo del procedimiento de radiomarcage para el producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ^{111}In . Se emplearon medidas de protección frente a la radiación y técnica aséptica a lo largo del procedimiento.

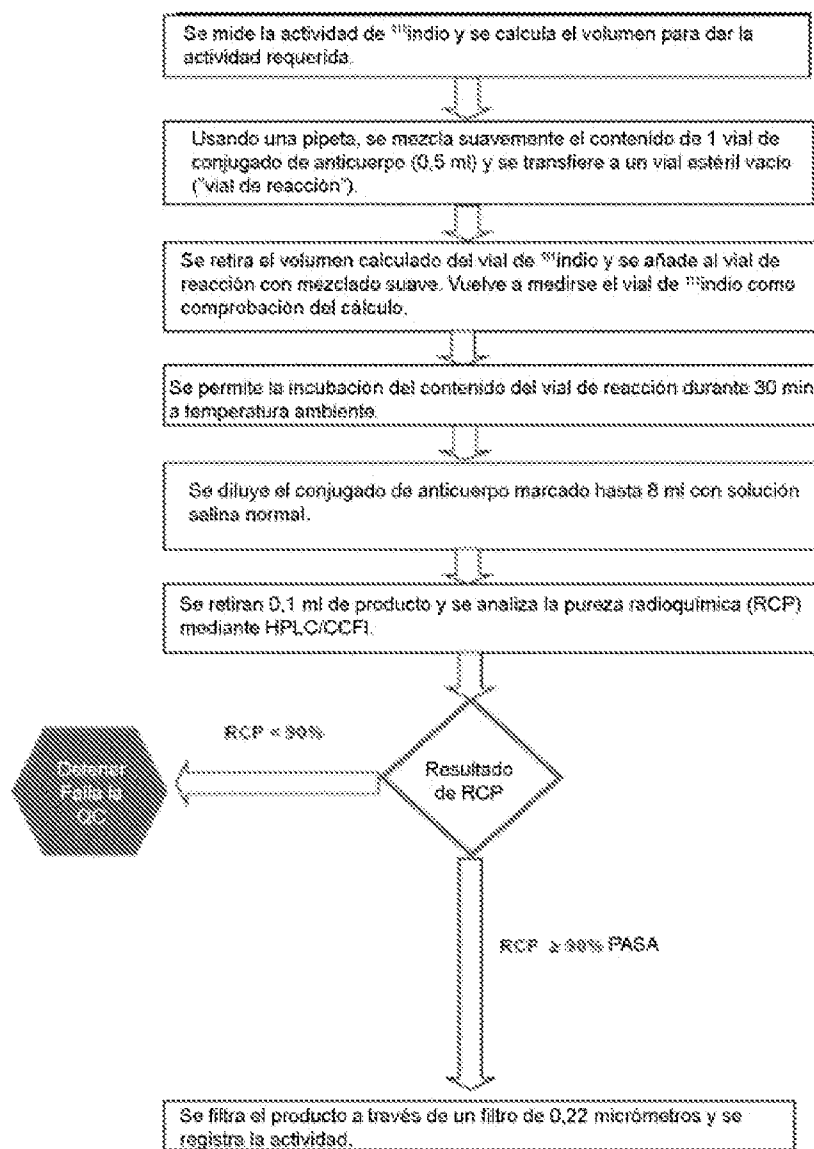


Figura 3

Diagrama de flujo del procedimiento de radiomarcaje para el producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66 marcado con ^{90}Y . Se emplearon medidas de protección frente a la radiación y técnica aséptica a lo largo del procedimiento.

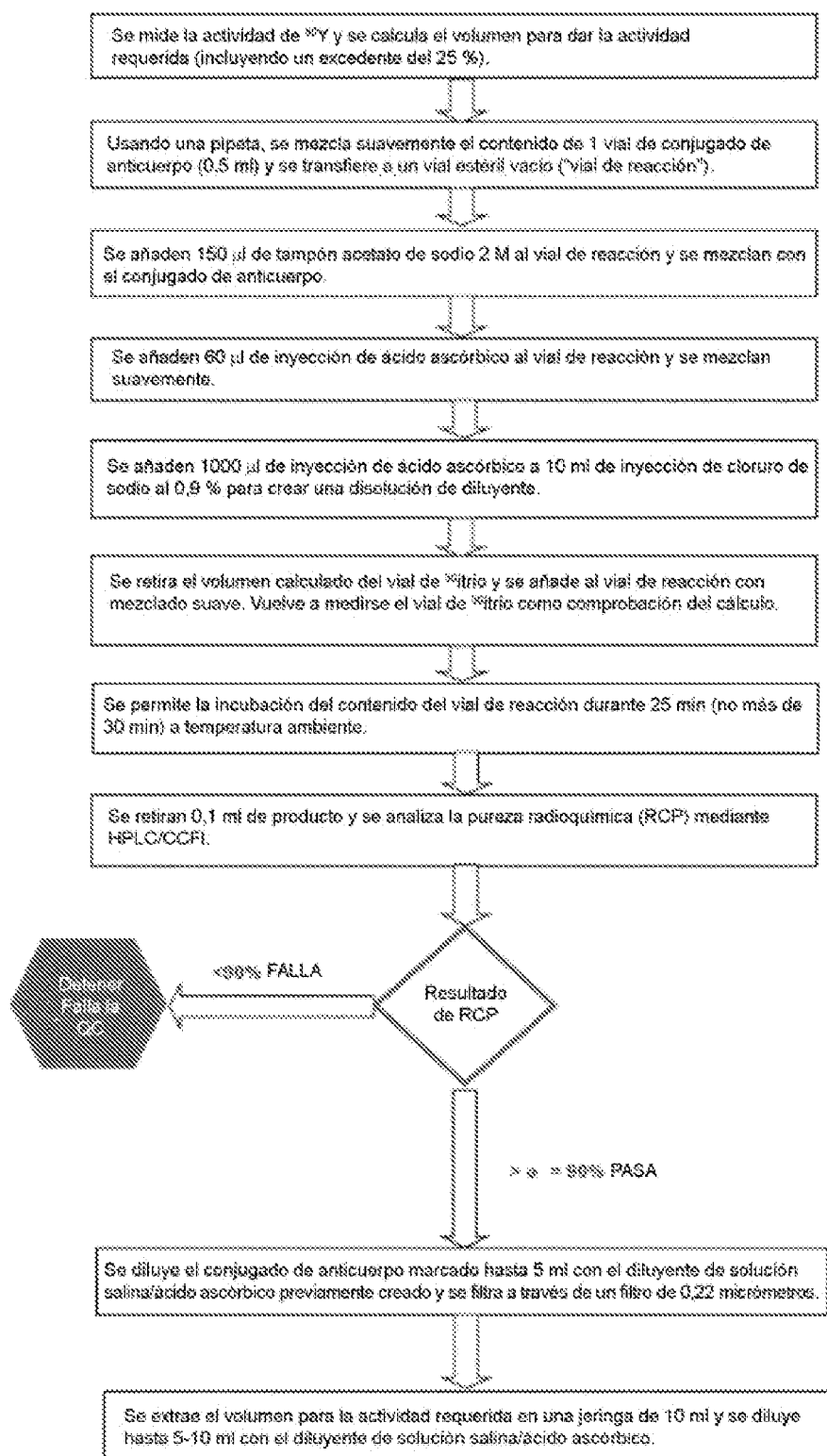


Figura 4

Composición del producto terminado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66
marcado con ⁹⁰itrio

Componente	Cantidad (por lote fabricado)	Función	Referencia a norma
Conjugado CHX-A"-DTPA-anticuerpo anti-CD66	Estéril, libre de pirógenos. Congelado en acetato de amonio 0,1 M, pH 6,0 como alícuotas de 0,5 ml que contienen 1,5 mg de anticuerpo	Vector para transportar ⁹⁰ itrio a la médula ósea	Producido por la Universidad de Bristol, número de parte 4072, GP liberado. Proporcionado con CoA. Sin TSE. Véase la sección 2.1.5
Cloruro de ⁹⁰ itrio	2000-3500 MBq en aproximadamente 100 µl de HCl 0,05 M	Radiactivo: la emisión de beta provoca la muerte celular	Precursor de calidad radioquímica proporcionado por Perkin Elmer, 940 Winter Street Waltham Massachusetts 02451 USA, número de producto NEZ-306B. Aproximadamente 3000 MBq/100 µl en HCl 0,05 M (puede variar). COA suministrado con cada lote. Fabricado según la norma ISO 9001:2006 Quality System Registration y conforme a las pautas de Buenas Prácticas de Fabricación Q7 para principios activos farmacéuticos, agosto de 2001. Es aceptable que se permitan productos radioquímicos donde el producto de calidad radiofarmacéutica equivalente no es adecuado. El patrocinador y el investigador se hacen responsables del uso del producto radioquímico en seres humanos.
Cloruro de sodio al 0,9 %	Para dar un volumen final de 8-10 ml	Diluyente	BP o Farm. Eur. o equivalente
Inyección de ácido ascórbico 100 mg/ml. (no debe contener EDTA que interfiere con el radiomarcaje)	60 µl al vial de reacción para la reacción de radiomarcaje 1000 µl en 10 ml de solución salina para volumen de dilución final	Radioprotector: reduce la autoradiólisis del producto	BPC o Farm. Eur. o equivalente

Figura 5

Imágenes gammagráficas secuenciales de cuerpo entero después de la infusión de anticuerpo anti-CD66 marcado con [^{111}In] (actividad total de 185 MBq)

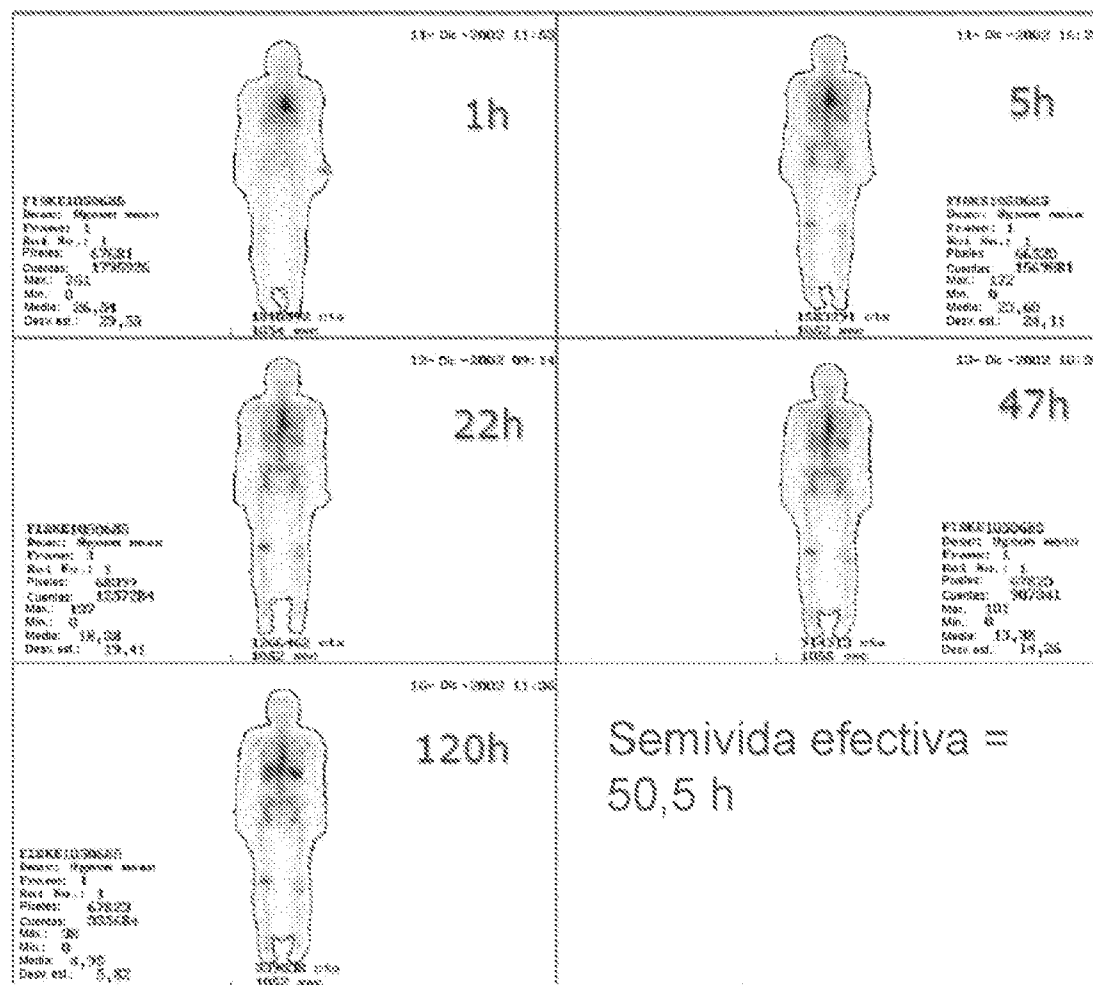
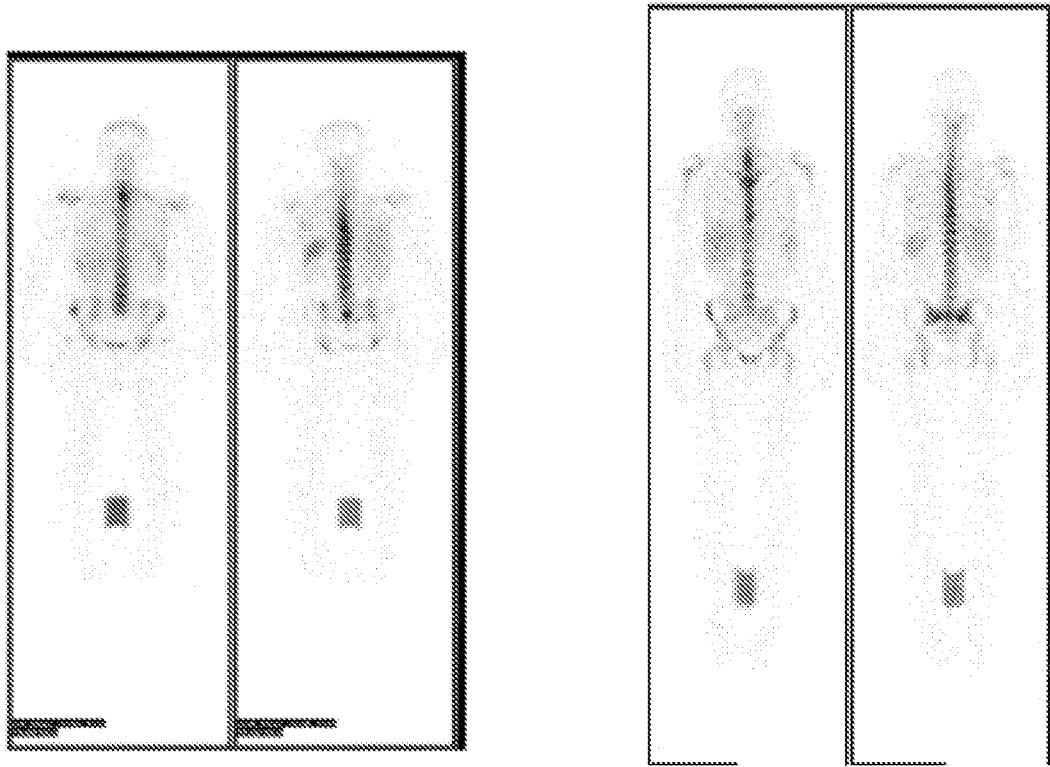


Figura 6

A

Imágenes de gammacámara después de anticuerpo anti-CD66 marcado con [^{111}In]



B

Imágenes de radiación de frenado después de anticuerpo anti-CD66 marcado con [^{90}Y]

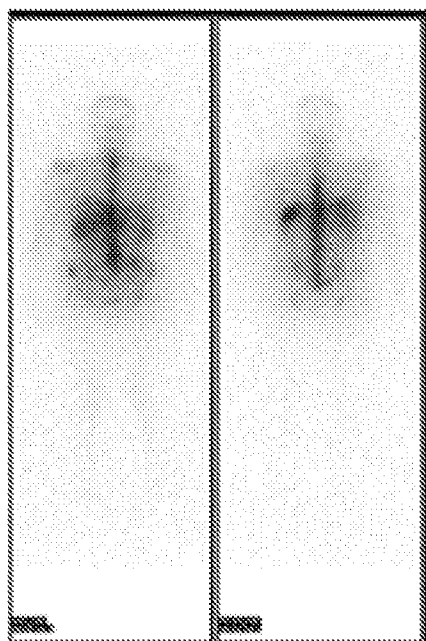


Figura 7

Respuesta de CLL del paciente TR01 de TRALA

