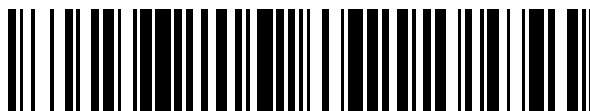


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 891 336**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

C07D 473/16 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.08.2016 PCT/EP2016/069571**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.03.2017 WO17032679**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.08.2016 E 16756997 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.07.2021 EP 3337506**

54 Título: **Combinaciones y usos de las mismas**

30 Prioridad:

21.08.2015 EP 15181925

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

27.01.2022

73 Titular/es:

MORPHOSYS AG (100.0%)

Semmelweisstrasse 7

82152 Planegg, DE

72 Inventor/es:

ENDELL, JAN;

WINDERLICH, MARK y

BOXHAMMER, RAINER

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 891 336 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

Combinaciones y usos de las mismas

5 Campo de la invención

La presente divulgación se refiere a una combinación farmacéutica de un anticuerpo anti-CD19 y un inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa B para el tratamiento del linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda.

10 Antecedentes

Las células B son linfocitos que desempeñan un papel importante en la respuesta inmunitaria humoral. Se producen en la médula ósea de la mayoría de los mamíferos y representan el 5-15% de la reserva linfocítica circulante. La función principal de las células B es producir anticuerpos contra varios antígenos y son un componente esencial del sistema inmunitario adaptativo.

Debido a su papel fundamental en la regulación del sistema inmunitario, la desregulación de las células B se asocia con una variedad de trastornos, como linfomas y leucemias. Estos incluyen linfoma no Hodgkin ("NHL"), leucemia linfocítica crónica ("CLL") y leucemia linfoblástica aguda ("ALL").

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

Además del NHL, hay varios tipos de leucemias que resultan de desregulación de las células B. La CLL es un tipo de leucemia en adultos provocada por una acumulación anormal de linfocitos B. En la CLL, los linfocitos malignos pueden parecer normales y maduros, pero no pueden hacer frente de manera eficaz a la infección. La CLL es la forma más común de leucemia en adultos. Los hombres tienen el doble de probabilidades de desarrollar CLL que las mujeres. Sin embargo, el factor de riesgo clave es la edad. Más del 75% de los casos nuevos se diagnostican en pacientes mayores de 50 años. Cada año se diagnostican más de 10.000 casos y la mortalidad es de casi 5.000 al año (American Cancer Society, 2006; y SEER Cancer Statistics Review). La CLL es una

enfermedad incurable, pero progresa lentamente en la mayoría de los casos. Muchas personas con CLL llevan una vida normal y activa durante muchos años. Debido a su lenta aparición, la CLL en etapa temprana generalmente no se trata, ya que se cree que la intervención temprana para la CLL no mejora el tiempo de supervivencia ni la calidad de vida. En cambio, la condición se monitoriza a lo largo del tiempo. Los tratamientos iniciales para la CLL varían dependiendo del diagnóstico exacto y la progresión de la enfermedad. Hay docenas de agentes que se usan para la terapia de la CLL. Los regímenes de quimioterapia combinada como FCR (fludarabina, ciclofosfamida y rituximab) y BR (Idelalisib y rituximab) son eficaces tanto en la CLL recién diagnosticada como en la recidivante. El trasplante alogénico de médula ósea (células madre) rara vez se usa como tratamiento de primera línea para la CLL debido a su riesgo.

Otro tipo de leucemia es la ALL, también conocida como leucemia linfocítica aguda. La ALL se caracteriza por la sobreproducción y la multiplicación continua de glóbulos blancos malignos e inmaduros (también conocidos como linfoblastos) en la médula ósea. "Agudo" se refiere al estado inmaduro e indiferenciado de los linfocitos circulantes ("blastos"), y a que la enfermedad progresa rápidamente con una esperanza de vida de semanas a meses si no se trata. La ALL es más común en la infancia con una incidencia máxima de 4 a 5 años de edad. Los niños de 12 a 16 años mueren más fácilmente que otros. Actualmente, por lo menos el 80% de la ALL infantil se considera curable. Cada año se diagnostican menos de 4.000 casos y la mortalidad es de casi 1.500 al año (American Cancer Society, 2006; y SEER Cancer Statistics Review).

La molécula de CD 19 humana es un receptor de superficie celular estructuralmente distinto expresado en la superficie de las células B humanas incluyendo, pero no limitadas a, células pre-B, células B en desarrollo temprano (es decir, células B inmaduras), células B maduras a través de diferenciación terminal en células plasmáticas y células B malignas. La CD 19 se expresa en la mayoría de las leucemias linfoblásticas agudas (ALL) pre-B, linfomas no Hodgkin, leucemias linfocíticas crónicas (CLL) de células B, leucemias pro-linfocíticas, leucemias de células pilosas, leucemias linfocíticas agudas comunes y algunas leucemias linfoblásticas agudas nulas (Nadler et al., J. Immunol., 131:244-250 (1983), Loken et al., Blood, 70:1316-1324 (1987), Uckun et al., Blood, 71:13-29 (1988), Anderson et al., 1984. Blood, 63:1424-1433 (1984), Scheuermann, Leuk. Lymphoma, 18:385-397 (1995)). La expresión de CD 19 en células plasmáticas sugiere además que puede expresarse en tumores de células B no diferenciados como mieloma múltiple, plasmacitomas, tumores de Waldenstrom (Grossbard et al., Br. J. Haematol, 102:509- 15(1998); Treon et al, Semin. Oncol, 30:248-52(2003)).

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

Se han demostrado ciertas terapias para CD19. Se administraron células T que expresan un receptor de antígeno quimérico anti-CD19 (CAR) que incluye tanto el dominio coestimulador CD3- ζ como el 4-BB a tres pacientes con CLL avanzada. Kalos et al., Las células T con receptores de antígenos quiméricos tienen efectos antitumorales potentes y pueden establecer la memoria en pacientes con leucemia avanzada, Science Translational Medicine, vol. 3, Nº 95 (10 de agosto de 2011), Sadelain et al., La promesa y las posibles dificultades de los receptores de antígenos quiméricos, Current Opinion in Immunology, Elsevier, vol. 21, Nº 2, 2 de abril de 2009, también describe receptores de antígenos quiméricos anti-CD19 (CAR).

El uso de un anticuerpo para CD19 en linfomas de células B inespecíficas se analiza en la WO2007076950 (US2007154473).

El uso de un anticuerpo para CD19 en CLL, NHL y ALL se describe en Scheuermann et al., CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy, Leukemia and Lymphoma, vol. 18, 385-397 (1995).

Anticuerpos adicionales específicos para CD19 se describen en la WO2005012493 (US7109304), WO2010053716 (US12/266.999) (Immunomedics); WO2007002223 (US8097703) (Medarex); WO2008022152 (12/377.251) y WO2008150494 (Xencor), WO2008031056 (US11/852.106) (Medimmune); WO 2007076950 (US 11/648.505) (Merck Patent GmbH); WO 2009/052431 (US12/253.895) (Seattle Genetics); y WO2010095031 (12/710.442) (Glenmark Pharmaceuticals), WO2012010562 y WO2012010561 (International Drug Development), WO2011147834 (Roche Glycart) y WO 2012/156455 (Sanofi).

Las combinaciones de anticuerpos específicos para CD19 y otros agentes se describen en la WO2010151341 (US 13/377.514) (The Feinstein Institute); la US5686072 (Universidad de Texas) y la WO2002022212 (PCT/US01/29026) (IDEC Pharmaceuticals), la WO2013/024097 (14/126,928) (MorphoSys AG) y la WO2013/024095 (14/127,217) (MorphoSys AG). El resumen 4765 de la reunión anual de la AACR 2014, del 5 al 9 de abril de 2014 en San Diego, California, titulado "Drug synergies observed for antibody and toxin components of SAR3419 ADC contribute to overall conjugate efficacy and can be combination drug or tumor cell line dependent" divulga el conjugado de fármaco anticuerpo (ADC) anti-CD19 SAR3419 combinado con inhibidores de PI3K en ciertas líneas celulares y por tanto enseña un enfoque de combinación que comprende un anticuerpo internalizando conjugado con una toxina que tiene un modo de acción diferente en comparación con los anticuerpos divulgados y

ejemplificados en la presente.

Ciertos inhibidores de fosfoinositido 3-quinasa están disponibles comercialmente. El Idelalisib, también conocido como GS-1101 o CAL-101, está comercializado por Gilead y tiene el nombre comercial Zydelig en los Estados Unidos. El Idelalisib se describe en las Patentes de Estados Unidos N° 6.800.620; 8.865.730; 8.980.901; RE44599; y RE44638.

Está claro que, a pesar del progreso reciente en el descubrimiento y desarrollo de agentes anticancerígenos, muchas formas de cáncer que implican tumores que expresan CD19 todavía tienen un pronóstico desfavorable. Por tanto, hay una necesidad de métodos mejorados para tratar tales formas de cáncer.

Sumario

Ni solo ni en combinación, el estado de la técnica sugiere los efectos sinérgicos de la combinación del anticuerpo ejemplificado e Idelalisib en el tratamiento del linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda.

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

En otro aspecto, la presente divulgación se refiere a una combinación sinérgica de un anticuerpo específico para CD19 y un inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa. Tales combinaciones son útiles en el tratamiento de enfermedades malignas de células B, como linfoma no Hodgkin (NHL), leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda (ALL).

Los modelos in vitro se consideran indicativos de cómo se comportaría un determinado compuesto o combinación de compuestos en humanos. Se probaron múltiples líneas celulares, por ejemplo, células MEC-1 (DSMZ # ACC497) una línea celular de leucemia de células B crónica. Las células MEC-1 en este modelo in vitro son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (CLL) en humanos.

Además, cuando los compuestos se combinan in vitro, se espera que la combinación solo tenga efectos aditivos. Sorprendentemente, los inventores descubrieron que la combinación de un anticuerpo particular específico para CD19 e Idelalisib mediaba un nivel sinérgico de destrucción celular específica in vitro en comparación con el anticuerpo y el Idelalisib solos.

Específicamente, los inventores descubrieron que la combinación de MOR00208 e Idelalisib mediaba un nivel sinérgico de destrucción celular específica in vitro en células MEC-1 en comparación con el anticuerpo y el Idelalisib solos.

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

En resumen, la combinación del anticuerpo anti-CD19 ejemplificado e Idelalisib se comportó de manera sinérgica en modelos relevantes para la CLL. Como la CLL es un trastorno relacionado con las células B y el CD19 se expresa altamente en las células B, la combinación ejemplificada tendría el mismo mecanismo de acción y también debería comportarse de manera sinérgica en el tratamiento de otros trastornos relacionados con las células B, por ejemplo, NHL y ALL.

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

Como el mecanismo de acción de Idelalisib y otros inhibidores de la fosfoinositido 3-quinasa son similares, ya que actúan inhibiendo una o más de las enzimas fosfoinositido 3-quinasas, que forman parte de la vía PI3K/AKT/mTOR, una vía de señalización importante para muchas funciones celulares como el control del crecimiento, el metabolismo y el inicio de la traducción, se cree que también debe observarse una sinergia cuando se trata a humanos que tienen linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda con

una combinación del anticuerpo anti-CD19 ejemplificado y un inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa distinto del Idelalisib.

Como el anticuerpo anti-CD19 ejemplificado y otros anticuerpos anti-CD19 se unen a CD19, se cree que la sinergia también debería observarse cuando se trata a humanos que tienen linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda con una combinación de cualquier anticuerpo anti-CD19 y un inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa, por ejemplo, Idelalisib.

Un aspecto de la presente divulgación comprende una combinación sinérgica en la que el anticuerpo específico para CD19 comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6) e Idelalisib. En aspectos preferidos, la combinación se usa para el tratamiento del linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda.

Descripción de los dibujos

La **Figura 1** muestra la secuencia de aminoácidos de los dominios variables de MOR00208.

La **Figura 2** muestra la secuencia de aminoácidos de las regiones Fc de MOR00208.

Las **Figuras 3-6** muestran las curvas de respuesta a la dosis de ADCC de la combinación de MOR00208 e Idelalisib en células MEC-1 de cuatro experimentos independientes.

Las **Figuras 7-10** muestran las curvas de CI de la combinación de MOR00208 e Idelalisib a diferentes dosis de cuatro experimentos independientes.

Descripción detallada de la invención

"Sinergia", "sinergismo" o "sinérgico" significan más que el efecto aditivo esperado de una combinación. La "sinergia", el "sinergismo" o el efecto "sinérgico" de una combinación se determina en la presente mediante los métodos de Chou et al., Clarke et al. y/o Webb et al. Ver Ting-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681 (2006), Clarke et al., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278 (1997) y Webb, J.L. (1963) Enzyme and Metabolic Inhibitors, Academic Press, Nueva York.

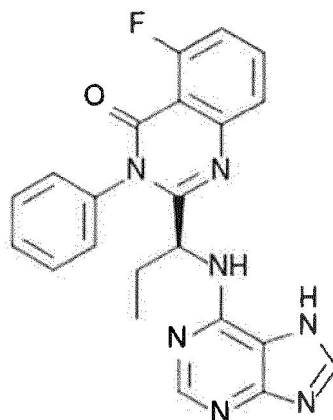
El término "anticuerpo" significa anticuerpos monoclonales, incluyendo cualquier isotipo, como IgG, IgM, IgA, IgD e IgE. Un anticuerpo de IgG se compone de dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas que están unidas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada y ligera contiene una región constante y una región variable. Cada región variable contiene tres segmentos denominados "regiones determinantes de la complementariedad" ("CDR") o "regiones hipervariables", que son principalmente responsables de la unión de un epítipo de un antígeno. Se denominan CDR1, CDR2 y CDR3, numerados secuencialmente desde el extremo N-terminal. Las porciones más altamente conservadas de las regiones variables fuera de las CDR se denominan "regiones marco". Un "fragmento de anticuerpo" significa un fragmento Fv, scFv, dsFv, Fab, Fab' F(ab')₂ u otro fragmento, que contiene por lo menos una cadena pesada variable o ligera variable, cada una conteniendo las CDR y las regiones marco.

Un "inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa" es una clase de fármaco médico que funciona inhibiendo una o más de las enzimas fosfoinositido 3-quinasa, que son parte de la vía PI3K/AKT/mTOR, una vía de señalización importante para muchas funciones celulares como como control del crecimiento, metabolismo e iniciación de la traducción.

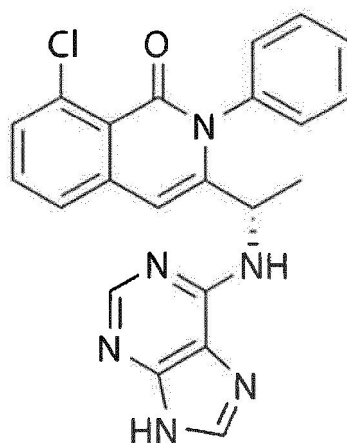
Hay varias clases e isoformas diferentes de PI3K. Las PI3K de clase 1 tienen una subunidad catalítica conocida como p110, con cuatro tipos (isoformas) - p110 alfa, p110 beta, p110 gamma y p110 delta. Los inhibidores que se están estudiando actualmente inhiben una o más isoformas de las PI3K de clase I. Los inhibidores de la fosfoinositida 3-quinasa incluyen por lo menos Idelalisib, Duvelisib y Copanlisib.

El Idelalisib está comercializado por Gilead Sciences, Inc. (nombre comercial Zydelig, también denominado GS-1101 o CAL-101). El Idelalisib está actualmente etiquetado para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (CLL) en recaída, en combinación con rituximab, en pacientes para los que el rituximab solo se consideraría una terapia adecuada debido a otras comorbilidades; linfoma no Hodgkin (FL) de células B folicular en recaída en pacientes que han recibido por lo menos dos terapias sistémicas previas; linfoma linfocítico pequeño (SLL) en recaída en pacientes que han recibido por lo menos dos terapias sistémicas previas. La sustancia actúa como

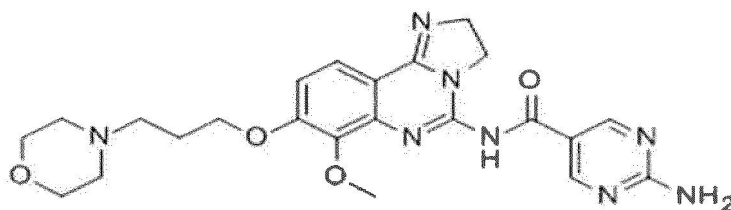
inhibidor de la fosfoinositida 3-quinasa; más específicamente, bloquea P110δ, la isoforma delta de la enzima fosfoinositido 3-quinasa. La fórmula del Idelalisib es:



El Duvelisib (IPI-145, INK1197) es un inhibidor de PI3K δ/γ (delta y gamma) novedoso y selectivo. La fórmula de Duvelisib es:



El Copanlisib (BAY 80-6946), desarrollado por Bayer, es un inhibidor selectivo de la fosfoinositido 3-quinasa de Clase I. La fórmula del Copanlisib es:



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

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

La CD19 humana tiene la secuencia de aminoácidos de:

MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPFLKLSL
 GLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLG
 GLGCGLKNRSSSEGPSSPSGKLMSPKLYWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNSQSLSDQDLTMAPGS
 5 TLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMMETGLLLPRATAQDAGK
 YYCHRGNTLMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRK
 RMTDPTRRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQA
 10 DGALGSRSPPGVGPEEEEEEGEGYEEDSEEDSEFYENDSNLGGDQLSQDGSQYENPEDEPLGPE
 DEDSFSNAESYENEDDELTQPVARTMDFLSPHGSADWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLR
 SIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR. (SEQ ID NO: 7)

"MOR00208" es un anticuerpo anti-CD19. La secuencia de aminoácidos de los dominios variables se
 proporciona en la Figura 1. La secuencia de aminoácidos de las regiones Fc de la cadena pesada y ligera de
 15 MOR00208 se proporciona en la Figura 2. "MOR00208", "XmAb 5574" y "MOR208" se usan como sinónimos para
 describir el anticuerpo que se muestra en las figuras 1 y 2. El anticuerpo MOR00208 se describe en la solicitud de
 patente de Estados Unidos número de serie 12/377.251, donde la cadena ligera completa es la SEQ ID NO: 106 y la
 cadena pesada completa es la SEQ ID NO: 87.

20 El MOR00208 se ha estudiado en ensayos clínicos en humanos en ALL, NHL, CLL y linfoma linfocítico
 pequeño (SLL).

Anticuerpos adicionales específicos para CD19 Se describen en la Patente de Estados Unidos N° 7.109.304
 (Immunomedics); Solicitud de Estados Unidos N° de serie 11/917.750 (Medarex); Solicitud de Estados Unidos N° de
 25 serie 11/852.106 (Medimmune); Solicitud de Estados Unidos N° de serie 11/648.505 (Merck Patent GmbH); Patente
 de Estados Unidos N° 7.968.687 (Seattle Genetics); y la Solicitud de Estados Unidos N° de serie 12/710.442
 (Glenmark Pharmaceuticals).

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

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

Cadena pesada que incluye la región Fc:

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGMSVGVIRQPPGKALEWLADIWWDDKKH
 YNPSLKDRILTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGQGTTVTVSSASTKG
 40 PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTV
 PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVHVDWLNKE
 45 YKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 8)

Cadena ligera que incluye la región Fc:

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSRVGYMHWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRF
 SSGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYCFQSGSGYPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
 55 ASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC
 EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 9)

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

60 Una "combinación" significa más de un elemento, por ejemplo, un compuesto como un anticuerpo e
 Idelalisib.

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

Actualmente, el Idelalisib se administra a 150 mg por vía oral dos veces al día. MOR00208 se administra actualmente por vía intravenosa y actualmente se dosifica o una vez a la semana o una vez cada dos semanas. En una realización, el Idelalisib se administra antes de la administración del anticuerpo específico para CD19, por ejemplo, MOR00208. En una realización, el Idelalisib se administra después de la administración del anticuerpo específico para CD19, por ejemplo, MOR00208.

Preferiblemente, la administración de ambos fármacos permite que ambos fármacos están activos en el paciente al mismo tiempo. Por ejemplo, si MOR00208 se dosifica semanalmente e Idelalisib se dosifica diariamente, entonces el principio activo de ambos fármacos está presente deseablemente en el paciente al mismo tiempo, incluso si ambos fármacos no siempre se administran ambos el mismo día.

"Simultáneamente" o "administrados juntos" significa que los dos componentes se administran en un momento en el que ambos componentes (fármacos) están activos en el paciente al mismo tiempo. El "sinergismo" implica que ambos fármacos están activos en el paciente al mismo tiempo. No es necesario que "simultáneamente" o "administrados juntos" signifique que los medicamentos se administren a la misma hora exacta o siempre el mismo día.

Los dos componentes pueden formularse en diferentes composiciones farmacéuticas.

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

"Administrado" o "administración" incluye, pero no se limita a, la administración mediante una forma inyectable e incluye, por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intradérmica, tópica, transdérmica, intraperitoneal, intraorbital, por implantación, o vía subcutánea o vía mucosal, para por ejemplo, como spray nasal o aerosol para inhalación o como solución ingerible, u por vía oral, como cápsula o comprimido.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto o combinación se refiere a una cantidad capaz de efectuar una mejora medible, aliviar o detener parcialmente las manifestaciones clínicas de una enfermedad o trastorno dados. La cantidad que sea eficaz para un propósito terapéutico particular dependerá de la gravedad de la enfermedad o lesión, así como del peso y estado general del sujeto. Se entenderá que la determinación de una dosificación apropiada puede lograrse, usando experimentación rutinaria, construyendo una matriz de valores y probando diferentes puntos en la matriz, todo lo cual está dentro de las habilidades ordinarias de un médico o científico clínico capacitado.

Las "CDR" en la presente están definidas por Chothia et al o Kabat et al. Ver Chothia C, Lesk AM. (1987) Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. J Mol Biol., 196(4):901-17. Ver Kabat E.A, Wu T.T., Perry H.M., Gottesman K.S. y Foeller C. (1991). Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5ª edición, NIH Publicación Nº 91-3242, US Dept. of Health and Human Services, Washington, DC.

"Competencia cruzada" significa la capacidad de un anticuerpo u otro agente de unión para interferir con la unión de otros anticuerpos o agentes de unión a CD19 en un ensayo de unión competitiva estándar. La capacidad o el grado en que un anticuerpo u otro agente de unión es capaz de interferir con la unión de otro anticuerpo o molécula de unión a CD19 y, por lo tanto, si puede decirse que compite de manera cruzada de acuerdo con la invención, puede determinarse usando ensayos de unión de competición estándares. Un ensayo adecuado implica el uso de la tecnología Biacore (por ejemplo, usando el instrumento BIAcore 3000 (Biacore, Uppsala, Suecia)), que puede medir el grado de las interacciones usando tecnología de resonancia de plasmones de superficie. Otro ensayo para medir la competencia cruzada usa un enfoque basado en ELISA. Un proceso de alto rendimiento para anticuerpos de "clasificación de epítomos" basado en su competencia cruzada se describe en la Solicitud de Patente Internacional Nº WO 2003/48731.

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

"Se une al mismo epítipo que" significa la capacidad de un anticuerpo u otro agente de unión de unirse a CD19 y que tiene el mismo epítipo que el anticuerpo ejemplificado. Los epítomos del anticuerpo ejemplificado y otros

anticuerpos para CD19 pueden determinarse usando técnicas de mapeo de epítomos estándar. Las técnicas de mapeo de epítomos, bien conocidas en la técnica, incluyen los protocolos de mapeo de epítomos en *Methods in Molecular Biology*, vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, Nueva Jersey. Por ejemplo, los epítomos lineales pueden determinarse, por ejemplo, sintetizando concurrentemente un gran número de péptidos sobre soportes sólidos, los péptidos correspondiendo a porciones de la molécula de proteína, y haciendo reaccionar los péptidos con anticuerpos mientras los péptidos todavía están unidos a los soportes. Tales técnicas son conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos Nº 4.708.871; Geysen et al, (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 8:3998-4002; Geysen et al., (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:78-182; Geysen et al., (1986) *Mol. Immunol.* 23:709-715. De manera similar, los epítomos conformacionales se identifican fácilmente determinando la conformación espacial de aminoácidos como, por ejemplo, mediante intercambio de hidrógeno/deuterio, cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear bidimensional. Ver, por ejemplo, *Epitope Mapping Protocols*, supra. Las regiones antigénicas de proteínas también pueden identificarse usando gráficos estándar de antigenicidad e hidropatía, como los calculados usando, por ejemplo, el programa de software Omega versión 1.0 disponible de Oxford Molecular Group. Este programa informático emplea el método de Hopp/Woods, Hopp et al, (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:3824-3828; para determinar los perfiles de antigenicidad y la técnica de Kyte-Doolittle, Kyte et al, (1982) *J. Mol. Biol.* 157: 105-132; para gráficos de hidropatía.

Realizaciones

Un aspecto de la presente divulgación comprende una combinación de un anticuerpo específico para CD19 y un inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa para su uso en el tratamiento del linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda. En realizaciones, la combinación es sinérgica.

En la presente, la combinación del anticuerpo anti-CD19 ejemplificado e Idelalisib se comportó sinérgicamente en modelos in vitro relevantes para la CLL. Como la CLL es un trastorno relacionado con las células B y CD19 se expresa altamente en las células B, la combinación ejemplificada debería tener el mismo mecanismo de acción y también debería comportarse sinérgicamente en el tratamiento de otros trastornos relacionados con las células B, por ejemplo, NHL y ALL. Por lo tanto, la combinación del anticuerpo ejemplificado específico para CD19 e Idelalisib debería ser eficaz en el tratamiento de humanos en linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda. La eficacia esperada de la combinación del anticuerpo específico para CD19 ejemplificado e Idelalisib se confirmará en ensayos clínicos.

Se probaron células MEC-1 (DSMZ# ACC497), una línea celular de leucemia de células B crónica.

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

Las células MEC-1 en este modelo in vitro son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (CLL) en humanos. Las células de Ramos en este modelo in vitro son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento del linfoma no Hodgkin (NHL) en humanos. Las células HG-3 y CII en este modelo in vitro son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (CLL) en humanos. Las células Su-DHL 6 y U2932 en este modelo in vitro son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento del linfoma no Hodgkin en humanos. Las células JVM-2 en este modelo in vitro son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento del linfoma no Hodgkin en humanos. Las células BALL-1 en este modelo in vitro son indicativas de cómo funcionará la combinación en el tratamiento de leucemia linfoblástica aguda en humanos.

El índice de Chou y los valores de Clarke et al. indican un claro sinergismo de la combinación de MOR00208 e Idelalisib en la destrucción específica de células MEC-1 en comparación con MOR00208 e Idelalisib solos.

En resumen, la combinación del anticuerpo anti-CD19 ejemplificado e Idelalisib se comportó sinérgicamente en modelos relevantes para la CLL. Por lo tanto, la combinación del anticuerpo ejemplificado específico para CD19 e Idelalisib debería ser eficaz en el tratamiento de humanos en linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda.

Como el mecanismo de acción de Idelalisib y otros inhibidores de la fosfoinositido 3-quinasa son similares, todos actúan inhibiendo una o más de las enzimas fosfoinositido 3-quinasa, que forman parte de la vía PI3K/AKT/mTOR, una importante vía de señalización para muchas funciones celulares como el control del crecimiento, el metabolismo y el inicio de la traducción, se cree que también debe observarse una sinergia cuando se trata a humanos que tienen linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda con una combinación del anticuerpo anti-CD19 ejemplificado y un inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa distinto de

Idelalisib.

Como el anticuerpo anti-CD19 ejemplificado y otros anticuerpos anti-CD19 se unen a CD19, se cree que también debe observarse sinergia cuando se trata a humanos que tienen linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda con una combinación de cualquier anticuerpo anti-CD19 y un inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa, donde el anticuerpo anti-CD19 se describe, por ejemplo, en la solicitud de Patente de Estados Unidos N° de serie 12/377.251 (Xencor), WO2005012493, WO2010053716 (Immunomedics); WO2007002223 (Medarex); WO2008022152 (Xencor); WO2008031056 (Medimmune); WO 2007/076950 (Merck Patent GmbH); WO 2009/052431 (Seattle Genetics); y WO2010095031 (Glenmark Pharmaceuticals).

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

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

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

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

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 11).

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

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK (SEQ ID NO: 12).

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

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC. (SEQ ID NO: 13)

En realizaciones, el inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa es Idelalisib.

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

específico para CD19. En una realización, el Idelalisib se administra después de la administración del anticuerpo específico para CD19. En realizaciones, los componentes de la combinación, el anticuerpo específico para CD19 e Idelalisib, se administran simultáneamente o juntos.

5 En realizaciones, la combinación es una composición farmacéutica. En realizaciones, la composición comprende un portador aceptable. En las realizaciones, la combinación se administra en una cantidad eficaz.

10 En otro aspecto, la combinación sinérgica de un anticuerpo específico para CD19 que comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6) e Idelalisib es capaz de mediar la destrucción de células MEC-1 por ADCC en presencia de PBMC humanas aisladas con una eficacia por lo menos dos veces, tres veces, cuatro veces o cinco veces mejor que la del Idelalisib solo.

15 Un aspecto de la presente divulgación comprende una combinación sinérgica de un anticuerpo específico para CD19 que comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6) e Idelalisib para el tratamiento del linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda. En realizaciones, el linfoma no Hodgkin se selecciona del grupo que consiste de linfoma folicular, linfoma linfocítico pequeño, tejido linfóide asociado a mucosas, zona marginal, células B grandes difusas, de Burkitt y células del manto.

25 Otro aspecto de la presente divulgación comprende un método para tratar linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda en un individuo con necesidad de ello, tal método comprende la administración de un anticuerpo específico para CD19 y un inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa. En realizaciones del método, el anticuerpo específico para CD19 comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). En realizaciones del método, el anticuerpo comprende el anticuerpo ejemplificado específico para CD19. En realizaciones del método el inhibidor de la fosfoinositido 3-quinasa es Idelalisib.

35 Otro aspecto comprende el uso de un anticuerpo específico para CD19 y un inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa en la fabricación de un medicamento para tratar linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia linfoblástica aguda en un individuo con necesidad de ello, tal método que comprende la administración del medicamento que comprende un anticuerpo específico para CD19 y un inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa. En realizaciones del método, el anticuerpo específico para CD19 comprende una región HCDR1 de la secuencia SYVMH (SEQ ID NO: 1), una región HCDR2 de la secuencia NPYNDG (SEQ ID NO: 2), una región HCDR3 de la secuencia GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), una región LCDR1 de la secuencia RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), una región LCDR2 de la secuencia RMSNLNS (SEQ ID NO: 5) y una región LCDR3 de la secuencia MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). En realizaciones del método, el anticuerpo comprende el anticuerpo ejemplificado específico para CD19. En realizaciones del método, el inhibidor de fosfoinositido 3-quinasa es Idelalisib.

45 Ejemplos

Ejemplo 1: Citotoxicidad de células MEC-1 usando MOR00208 e Idelalisib solos y en combinación

50 Materiales

Líneas celulares células MEC-1 (DSMZ#ACC497) línea celular de leucemia de células B crónica; JVM-2 (ATCC® CRL-3002) una línea celular de linfoma de células del manto; células de Ramos (ATCC número CRL-1596), células de linfoma de Burkitt humano; HG-3 (DSMZ#ACC765) y CII (DSMZ#ACC773) son una línea celular de leucemia linfocítica crónica; Su-DHL 6 (DSMZ#ACC572) y U2932 (DSMZ#ACC633) son una línea celular de linfoma difuso de células B grandes (DLBCL); y BALL-1 (DSMZ#ACC742) es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda.

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

Medio celular: medio de Dulbecco modificado de Iscove (IMDM), Invitrogen, N° de cat.: 31980-048; RPMI1640, Invitrogen, N° de catálogo: 31870-074; GlutaMAX, Invitrogen, N° de CAT: 35050-38 Lote N°: 1654740; FCS: Sigma N° de CAT: F7524 Lote N°: 111M3396. NK: RPMI1640, con GlutaMAX™, Invitrogen, N° de catálogo 31870-074, FCS al 10%; Biocoll: Biochrome AG N° de CAT: L6115 N° de Lote: 0034D; Kit de aislamiento de células

MACS NK: Miltenyi Biotec N° de CAT: 130-092-657 Lote N°: 5150327376; Idelalisib: Selleck Chem N° de CAT: S2226; FCS: Sigma N° de CAT: F7524 Lote N°: 111M3396; y RefmAb33 (anti-RSV) con la misma región Fc que MOR00208.

5 Métodos

Se probaron la citotoxicidad de MOR00208 e Idelalisib solos y en combinación en la línea celular MEC-1.

10 El Idelalisib es un inhibidor de la fosfoinositido 3-quinasa; más específicamente, bloquea P110δ, la isoforma delta de la enzima fosfoinositido 3-quinasa. El Idelalisib solo tiene pocos o ningún efecto citotóxico contra las células MEC-1. MOR00208 se dirige a CD19 y media la destrucción de células objetivo a través de ADCC.

15 Como controles se usaron los siguientes: a) células MEC-1 + RefmAb33 + DMSO + células NK, b) células MEC-1 + DMSO + células NK, c) células MEC-1 + DMSO.

La destrucción de las células objetivo se midió usando los siguientes parámetros: Idelalisib a concentraciones de 0,3, 1, 3 y 10 µM; MOR00208 a concentraciones de 1,5, 0,015 y 0,0015 µg/ml y la combinación de MOR00208 e Idelalisib a las mismas concentraciones.

20 En el grupo de Idelalisib, el grupo de MOR00208 solo y en el grupo de combinación de MOR00208 + Idelalisib, las células objetivo se pretrataron con Idelalisib durante 7 días antes de las mediciones del ensayo de ADCC. Se contaron las células objetivo y se tiñeron usando una concentración final de CFSE de 10 µM. Para las células diana tratadas con DMSO, se elige una proporción de efector: objetivo (E:T) de 2:1, que corresponde a una densidad celular de 5×10^5 /ml. El efecto proliferativo sobre las células objetivo provocado por el tratamiento con Idelalisib se incluyó ajustando la proporción de E:T en las células tratadas con inhibidor. Las células NK se cuentan y se ajustan a 1×10^6 /ml. Los ensayos de destrucción de células objetivo se realizaron de la siguiente manera: usando placas de 96 pocillos, se añadieron 100 µl de suspensión de células objetivo por pocillo, seguido de 100 µl de suspensión celular de células NK a cada pocillo, lo que dio como resultado una proporción E:T de 2:1. Los anticuerpos se diluyeron en un intervalo de 10-0,00001 nM (correspondiente a 1,5-0,0000015 µg/ml) en medio. Las células se centrifugaron y los sedimentos de células objetivo: efectoras se volvieron a suspender en 100 µl de medio que contenía anticuerpo o la solución de control correspondiente. El ensayo se incubó durante 4 h en una incubadora de CO₂ a 37° C. Después de 10 min de incubación en hielo, se añadieron 50 µl de solución de DAPI a cada pocillo (concentración final de 1 µg/ml) y se incubaron en hielo durante 10 min. Las mediciones de destrucción de células se realizaron con FACS-Verse. Las células objetivo muertas fueron positivas para DAPI.

35 Datos

40 En total, se realizaron seis experimentos para determinar la mediación de ADCC sobre células MEC-1 por la combinación de MOR00208 e Idelalisib. En dos de los seis experimentos, los datos se excluyeron del análisis porque el control de RefmAb y el control de DMSO solo mostraron un 25% más de muerte en comparación con el control de células MEC-1 solas. La autorreactividad de las células NK impidió un análisis apropiado en esos dos experimentos.

45 Las curvas de respuesta a la dosis de ADCC para los Experimentos 1-4 se muestran en las Figuras 3-6.

El porcentaje (%) de células muertas (datos brutos) para los Experimentos 1-4 se muestra en las Tablas 1-16 a continuación.

50 Experimento 1

Tabla 1: Idelalisib a 10µM

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
A: MOR00208 solo	62,9	63,1	40,3
B: Idela solo 10µM	11,6	11,6	11,6
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
AB: combinación	88,0	86,4	68,2

Tabla 2: Idelalisib a 3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	62,9	63,1	40,3
B: Idela solo 3 μ M	11,3	11,3	11,3
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
AB: combinación	87,7	87,6	68,1

Tabla 3: Idelalisib a 1 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	62,9	63,1	40,3
B: Idela solo 1 μ M	10,8	10,8	10,8
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
AB: combinación	85,9	79,6	65,3

Tabla 4: Idelalisib a 0,3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	62,9	63,1	40,3
B: Idela solo 0.3 μ M	6,8	6,8	6,8
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
AB: combinación	77,5	78,5	57,6

Experimento 2

Tabla 5: Idelalisib a 10 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	85,6	78,9	52,9
B: Idela solo 10 μ M	14,7	14,7	14,7
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
AB: combinación	92,5	87,2	52,6

Tabla 6: Idelalisib a 3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	85,6	78,9	52,9
B: Idela solo 3μM	14,6	14,6	14,6
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
AB: combinación	90,9	83,9	51,8

Tabla 7: Idelalisib a 1 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	85,6	78,9	52,9
B: Idela solo 1μM	20,7	20,7	20,7
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
AB: combinación	94,2	86,5	63,4

Tabla 8: Idelalisib a 0,3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	85,6	78,9	52,9
B: Idela solo 0.3μM	20,8	20,8	20,8
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
AB: combinación	93,9	89,3	60,9

Experimento 3

Tabla 9: Idelalisib a 10 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	62,0	59,5	43,5
B: Idela solo 10μM	11,5	11,5	11,5
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
AB: combinación	81,3	73,0	48,9

Tabla 10: Idelalisib a 3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	62,0	59,5	43,5
B: Idela solo 3μM	14,0	14,0	14,0
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
AB: combinación	81,1	74,0	46,8

Tabla 11: Idelalisib a 1 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	62,0	59,5	43,5
B: Idela solo 1μM	18,7	18,7	18,7
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
AB: combinación	83,9	78,5	52,7

Tabla 12: Idelalisib a 0,3 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	62,0	59,5	43,5
B: Idela solo 0.3μM	17,3	17,3	17,3
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
AB: combinación	80,4	73,7	50,8

Experimento 4Tabla 13: Idelalisib a 10 μ M

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 solo	74,6	73,3	56,3
B: Idela solo 10μM	12,1	12,1	12,1
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
AB: combinación	90,6	88,0	68,9

Tabla 14: Idelalisib a 3 µM

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
A: MOR00208 solo	74,6	73,3	56,3
B: Idela solo 3µM	13,8	13,8	13,8
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
AB: combinación	91,9	88,5	66,2

Tabla 15: Idelalisib a 1 µM

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
A: MOR00208 solo	74,6	73,3	56,3
B: Idela solo 1µM	15,9	15,9	15,9
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
AB: combinación	91,7	89,9	67,4

Tabla 16: Idelalisib a 0,3 µM

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
A: MOR00208 solo	74,6	73,3	56,3
B: Idela solo 0.3µM	15,5	15,5	15,5
C: control (0,03%DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
AB: combinación	90,4	87,7	66,1

Cálculo del sinergismo: Clarke et al.

Cuando un fármaco tiene una actividad baja, como aquí, el Idelalisib solo tiene una actividad de citotoxicidad baja contra las células MEC-1, la sinergia puede determinarse mediante evidencia estadística de que la combinación es significativamente diferente del fármaco inhibidor solo. Ver Clarke et al., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278 (1997)..

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

Antagonista	$(AB)/C < (A/C) \times (B/C)$
Aditivo	$(AB)/C = (A/C) \times (B/C)$
Sinérgico	$(AB)/C > (A/C) \times (B/C)$

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

Experimento 1

Tabla 17: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 1

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	12,0	11,7	9,3
(AB)/C	12,0	11,7	9,3
(A/C)x(B/C)	13,5	13,5	8,6

Tabla 18: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 2

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	11,9	11,9	9,3
(AB)/C	11,9	11,9	9,3
(A/C)x(B/C)	13,1	13,1	8,4

Tabla 19: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 3

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	11,7	10,8	8,9
(AB)/C	11,7	10,8	8,9
(A/C)x(B/C)	12,5	12,5	8,0

Tabla 20: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 4

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	10,5	10,7	7,8
(AB)/C	10,5	10,7	7,8
(A/C)x(B/C)	7,9	7,9	5,0

Experimento 2

Tabla 21: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 5

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	4,8	4,5	2,7
(AB)/C	4,8	4,5	2,7
(A/C)x(B/C)	3,4	3,1	2,1

Tabla 22: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 6

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	4,7	4,4	2,7
(AB)/C	4,7	4,4	2,7
(A/C)x(B/C)	3,4	3,1	2,1

Tabla 23: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 7

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	4,9	4,5	3,3
(AB)/C			
(A/C)x(B/C)	4,8	4,4	3,0

Tabla 24: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 8

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	4,9	4,6	3,2
(AB)/C			
(A/C)x(B/C)	4,8	4,4	3,0

Experimento 3

Tabla 25: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 9

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	4,3	3,8	2,6
(AB)/C			
(A/C)x(B/C)	2,0	1,9	1,4

Tabla 26: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 10

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	4,2	3,9	2,5
(AB)/C			
(A/C)x(B/C)	2,4	2,3	1,7

Tabla 27: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 11

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	4,4	4,1	2,8
(AB)/C			
(A/C)x(B/C)	3,2	3,1	2,2

Tabla 28: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 12

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml	0.015 µg/ml	0.0015 µg/ml
	4,2	3,9	2,7
(AB)/C			
(A/C)x(B/C)	2,9	2,8	2,1

Experimento 4

Tabla 29: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 13

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml 4,2	0.015 µg/ml 4,1	0.0015 µg/ml 3,2
(AB)/C			
(A/C)x(B/C)	2,0	1,9	1,5

Tabla 30: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 14

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml 4,3	0.015 µg/ml 4,1	0.0015 µg/ml 3,1
(AB)/C			
(A/C)x(B/C)	2,2	2,2	1,7

Tabla 31: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 15

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml 4,3	0.015 µg/ml 4,2	0.0015 µg/ml 3,1
(AB)/C			
(A/C)x(B/C)	2,6	2,5	2,0

Tabla 32: Análisis de Clarke de los datos mostrados en la Tabla 16

	Concentración de MOR00208		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 µg/ml 4,2	0.015 µg/ml 4,1	0.0015 µg/ml 3,1
(AB)/C			
(A/C)x(B/C)	2,5	2,5	1,9

Resultados

Los experimentos 2-4 a cada concentración mostraron una clara sinergia de la combinación de MOR00208 + Idelalisib usando los métodos de Clarke et al. El Experimento 1, sin embargo, a unas pocas concentraciones no mostró sinergismo, porque el grupo de Idelalisib (ver Tablas 1-3) mostró un efecto pequeño, cuyo efecto fue ligeramente mayor que el del control (~4% mayor que el del control). Esta pequeña diferencia (~4%) en comparación con el control, está dentro del intervalo de los otros controles, por lo que puede atribuirse a la configuración experimental.

Cálculo del sinergismo: índice de combinación (CI)

Para confirmar los resultados de la sinergia calculados usando Clarke et al. anterior, se aplicó el método del Índice de Combinación (CI) al % de células muertas (datos brutos) de las Tablas 1-16. Para los cálculos del CI, usamos 0,3, 1, 3 y 10 µM de Idelalisib y tres concentraciones de MOR208 (1,5, 0,015 y 0,0015 µg/ml).

Tales cálculos se describen en Ting-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681 (2006), y Chou TC, Talalay P, Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 22: 27-55 (1984). Los métodos de Chou-Talalay se llevan a cabo usando el método CI-isobol.

Ecuación del efecto mediano

La ecuación del efecto mediano modela el efecto de un inhibidor (como un fármaco) como F_a/F_u

$= (D/D50)^m$, donde D es la dosis, F_a y F_u es la fracción del sistema afectado y no afectado por la dosis D ($F_a + F_u = 1$); D50 es la dosis que produce el efecto mediano (por ejemplo, IC50, ED50, LD50). La constante m determina la forma de la curva dosis-efecto. Usamos GraphPad Prism para realizar un cálculo de regresión no lineal para estimar los parámetros m y D50.

Método CI-Isobol

El método CI-isobol proporciona una evaluación cuantitativa del sinergismo entre fármacos. Se estima un índice de combinación (CI) a partir de los datos de dosis-efecto de tratamientos farmacológicos individuales y combinados. Un valor de CI menor que 1 indica sinergismo; CI = 1 indica efecto aditivo; y CI > 1 indica antagonismo. La interacción farmacológica (sinergismo o antagonismo) es más pronunciada cuanto más lejos está el valor de CI de 1.

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

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

Aquí D1 y D2 son las dosis de fármaco 1 y el fármaco 2 de la combinación, respectivamente; y Dx1, y Dx2 es la dosis de un tratamiento con solo el fármaco 1 y el fármaco 2 que daría el mismo efecto que el de la combinación. Las dosis Dx1 y Dx2 deben estimarse a partir de los datos de dosis-efecto de tratamientos con fármacos individuales. Esencialmente, se ajusta una ecuación de efecto mediano a los datos de cada fármaco. A partir de la ecuación del efecto mediano de un fármaco, podemos estimar la dosis (es decir, D) necesaria para producir un efecto (es decir, F_a , F_u). Cuanto más lejos se encuentra un punto de la línea aditiva, mayor será la diferencia entre 1 y su CI, por tanto, más fuerte será el efecto (sinérgico o antagonista).

Resultados

Las curvas generadas para los cálculos de sinergia basados en Chou se muestran en las Figuras 7-10. Los valores del índice de Chou indican un sinergismo claro en todos los Experimentos 1-4 de la combinación de MOR00208 e Idelalisib en la destrucción específica de células MEC-1 en comparación con MOR00208 e Idelalisib solos.

La combinación de MOR00208 e Idelalisib se comportó sinérgicamente en la línea celular de CLL MEC-1. Por lo tanto, se cree que la combinación de MOR00208 e Idelalisib es sinérgica en el tratamiento de la CLL en humanos.

Además, también se cree que la combinación de MOR00208 e Idelalisib se comportará sinérgicamente en el tratamiento del linfoma no Hodgkin (NHL), la leucemia linfocítica crónica (CLL) y la leucemia linfoblástica aguda (ALL) en humanos.

REIVINDICACIONES

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

2. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada variable de la secuencia
EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
NDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 10) y una cadena ligera variable de la secuencia

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK
(SEQ ID NO: 11).

3. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende un dominio constante de cadena pesada de la secuencia

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 12).

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

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:
13).

5. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho anticuerpo específico para CD19 y el Idelalisib se formulan en diferentes composiciones farmacéuticas.

6. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho anticuerpo específico para CD19 y el Idelalisib se administran por separado.

7. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicho anticuerpo específico para CD19 y el Idelalisib se administran físicamente por separado.

8. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicho anticuerpo específico para CD19 y el Idelalisib se administran por separado en el tiempo.

9. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicho anticuerpo específico para CD19 y el Idelalisib se administran juntos.

10. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el Idelalisib se administra antes de la administración del anticuerpo específico para CD19.

11. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el Idelalisib se administra después de la administración del anticuerpo específico para CD19.

12. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicho anticuerpo específico para CD19 y el Idelalisib se administran simultáneamente.
- 5 13. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el tratamiento es de linfoma no Hodgkin, opcionalmente en donde el linfoma no Hodgkin se selecciona del grupo que consiste de linfoma folicular, linfoma linfocítico pequeño, linfoma de tejido linfoide asociado a mucosas, linfoma de la zona marginal, linfoma de células B grandes difusas, linfoma de Burkitt y linfoma de células del manto.
- 10 14. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el linfoma no Hodgkin es un linfoma folicular.
- 15 15. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el linfoma no Hodgkin es un linfoma linfocítico pequeño.
- 15 16. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el linfoma no Hodgkin es un linfoma de tejido linfoide asociado a mucosas.
- 20 17. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el linfoma no Hodgkin es un linfoma de la zona marginal.
- 20 18. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el linfoma no Hodgkin es un linfoma de células B grandes difusas.
- 25 19. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el linfoma no Hodgkin es un linfoma de Burkitt.
- 30 20. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el linfoma no Hodgkin es un linfoma de células del manto.
- 30 21. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el tratamiento es de leucemia linfocítica crónica.
- 35 22. La combinación sinérgica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el tratamiento es de leucemia linfoblástica aguda.

Figura 1

La secuencia de aminoácidos del Dominio Pesado Variable de MOR00208 es:
(Las CDR están en negrita y subrayadas)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFT**SYVMH**WVRQAPGKGLEWIGYIN**NPY**
NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARG**GTYYYGTRVFDY**WG
QGTLTVSS (SEQ ID NO: 10)

La secuencia de aminoácidos del Dominio Ligero Variable de MOR00208 es:
(Las CDR están en negrita y subrayadas)

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

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

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

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

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

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

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

Figura 2

Secuencia de regiones Fc

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

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVVSFLTIVHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 12).

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

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKD STYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)

Figura 3

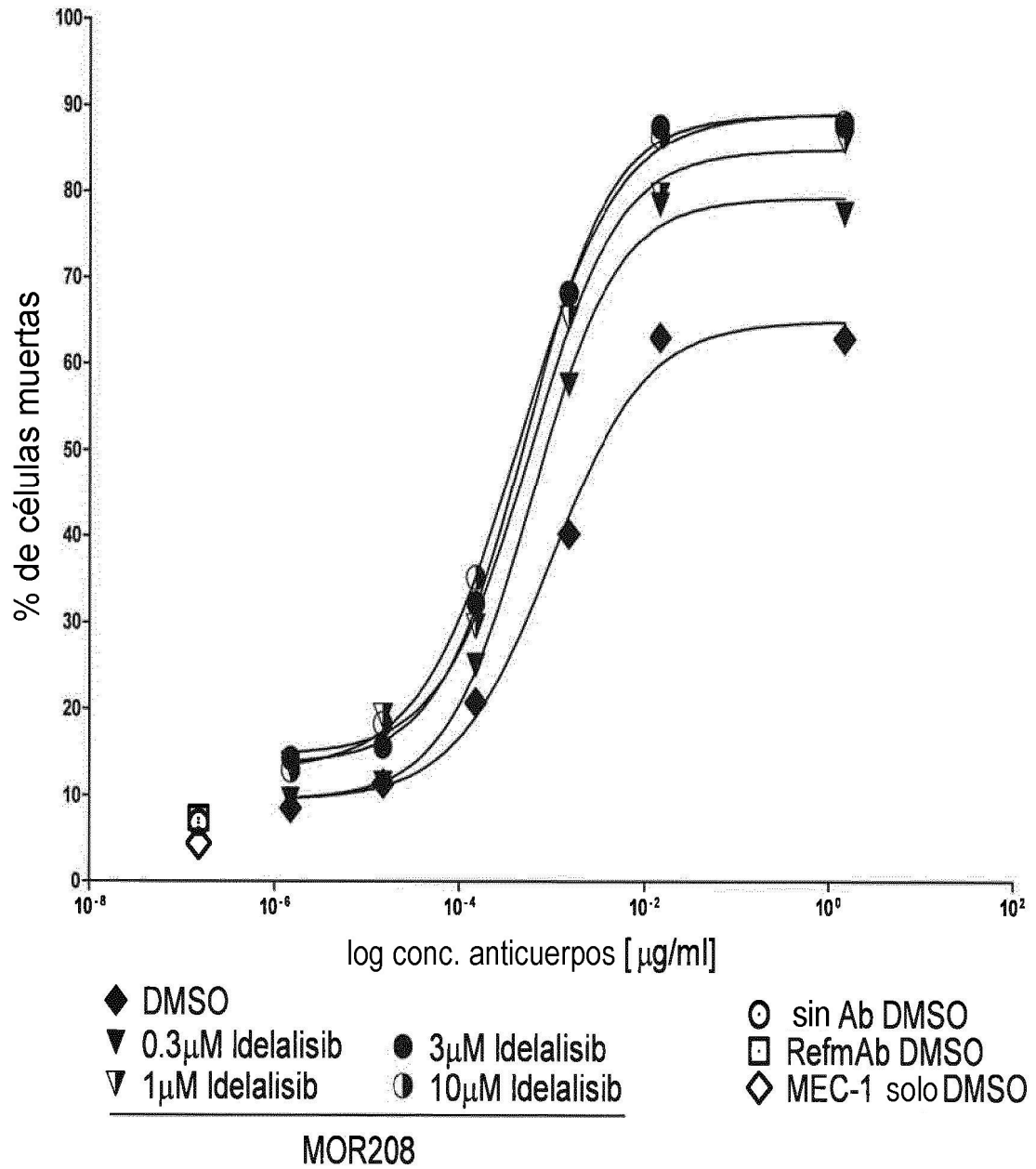


Figura 4

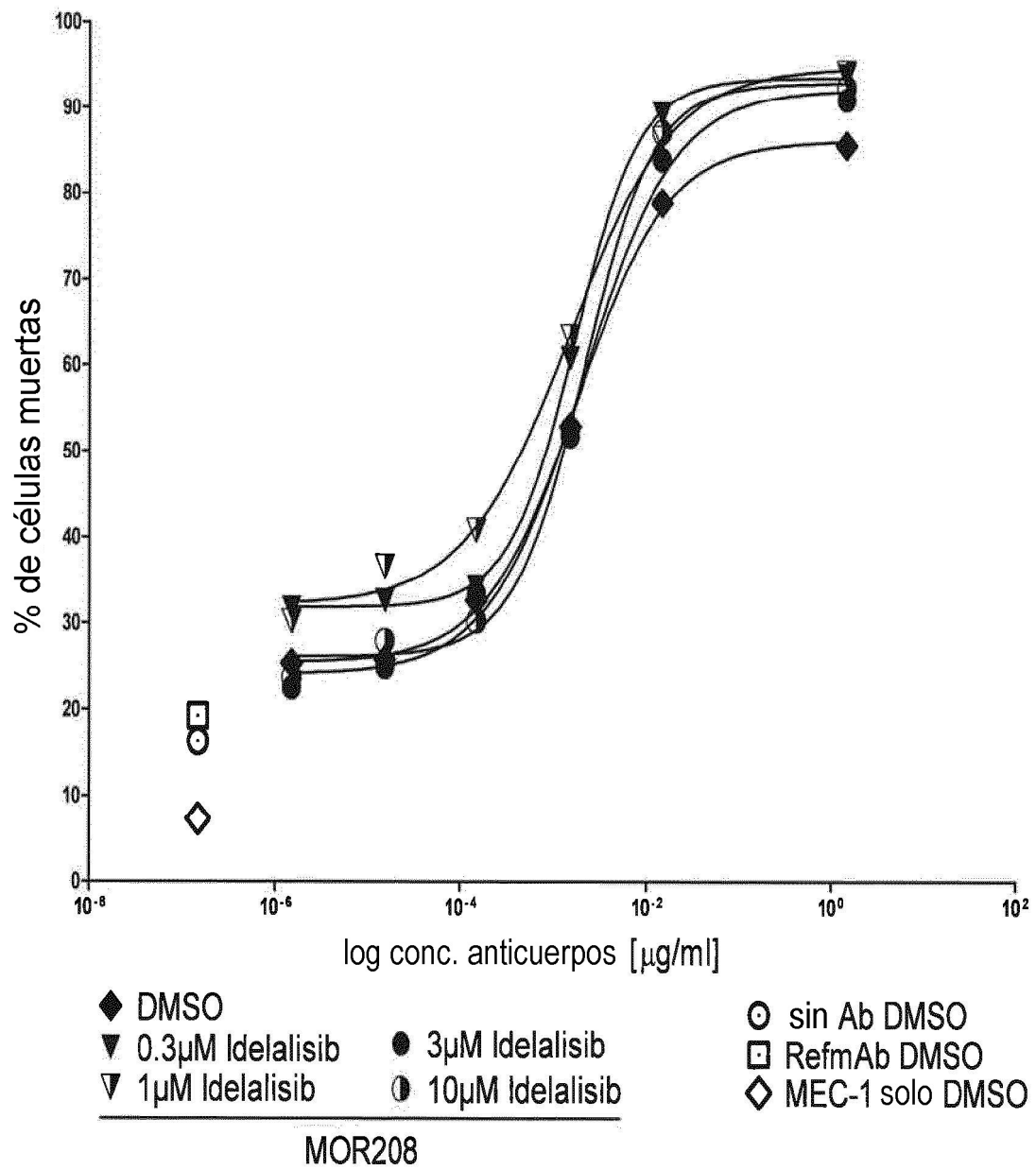


Figura 5

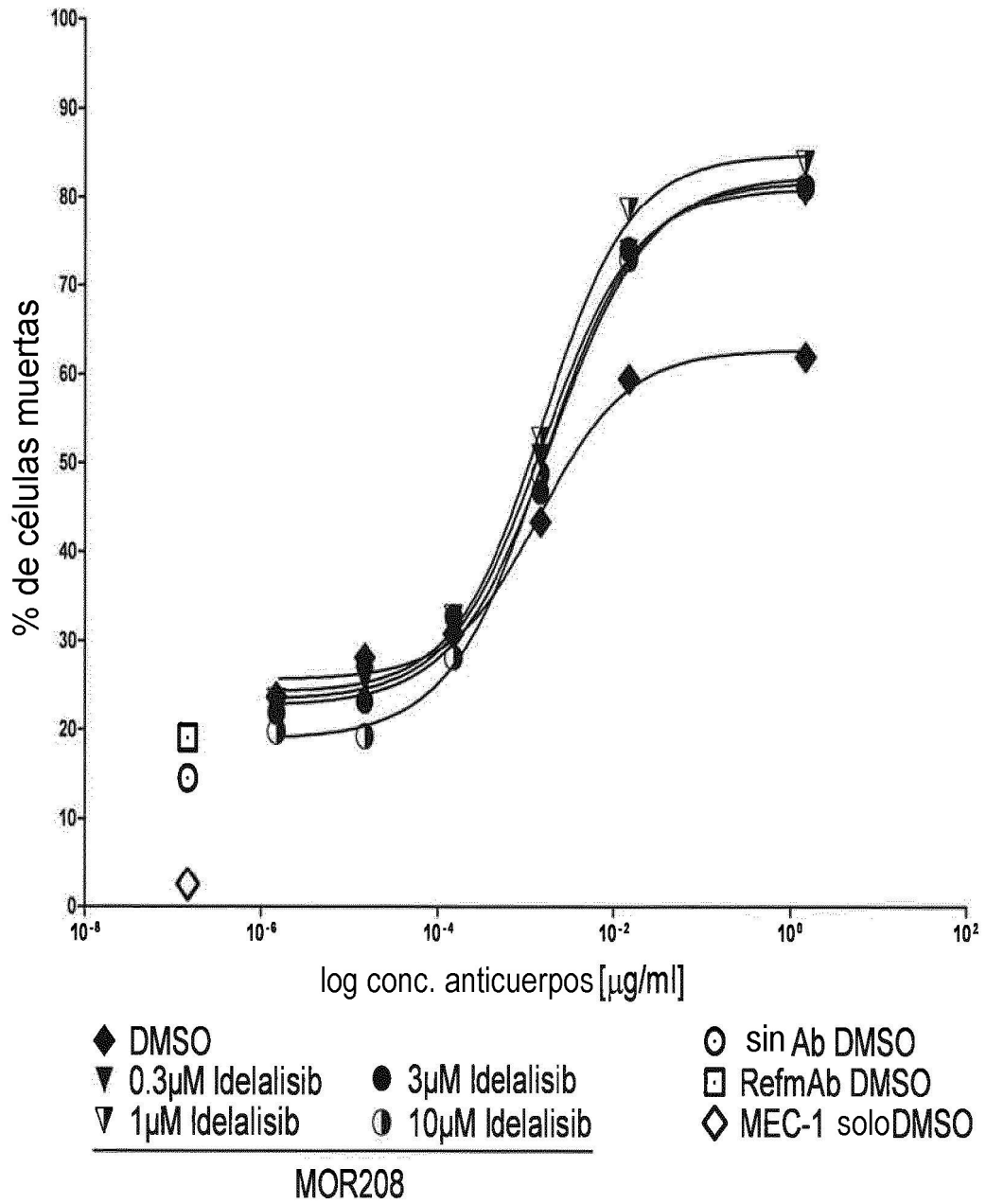


Figura 6

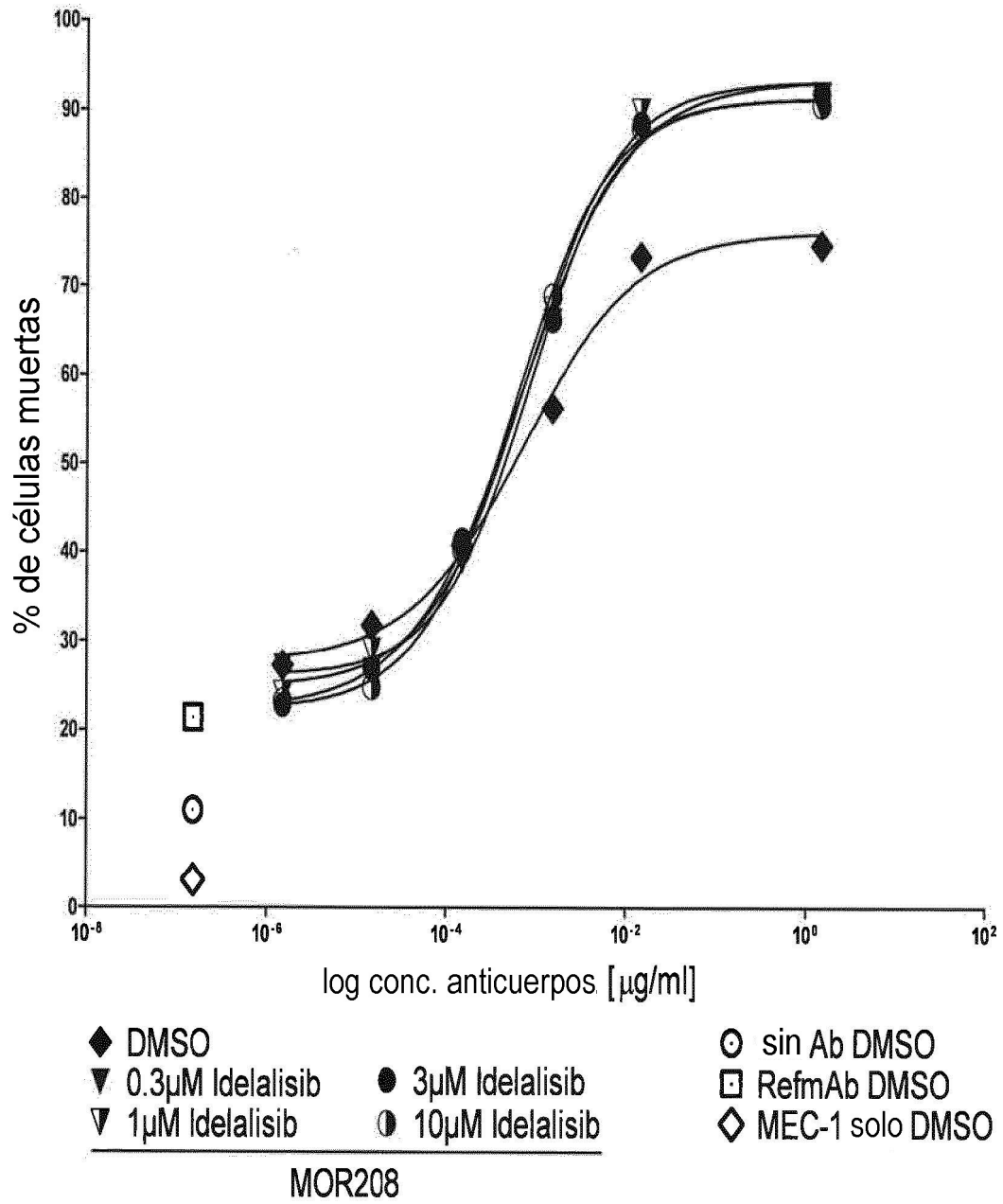


Figura 7

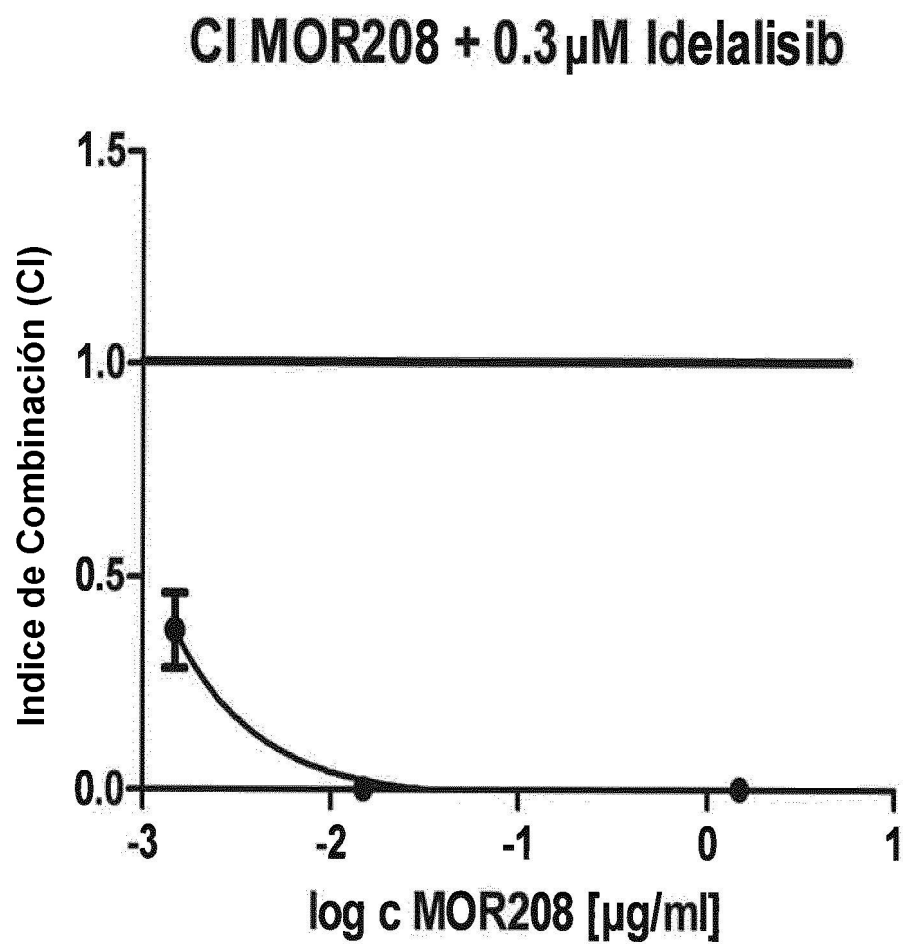


Figura 8

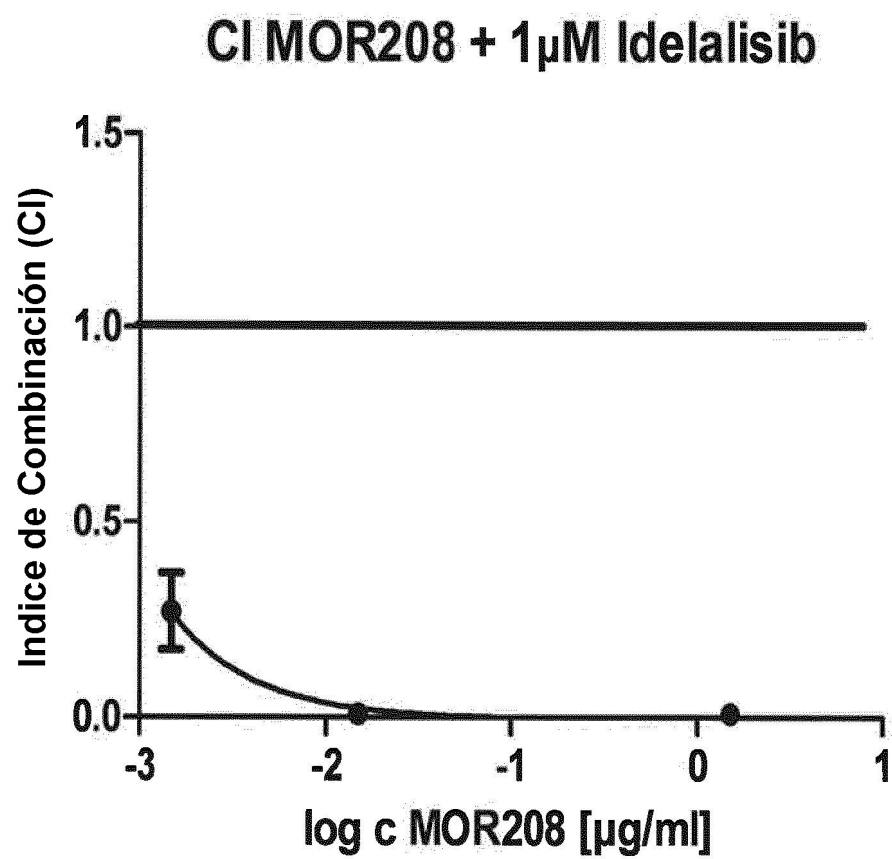


Figura 9

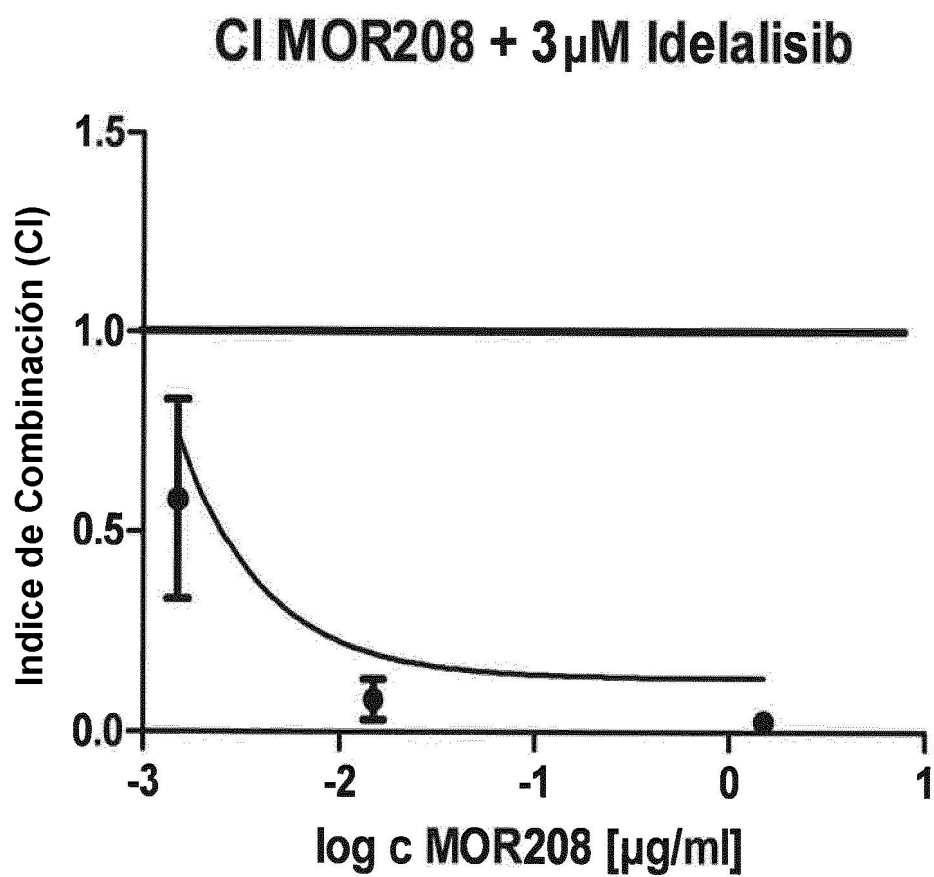


Figura 10

