



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0921858-0 B1



(22) Data do Depósito: 27/11/2009

(45) Data de Concessão: 16/11/2022

(54) Título: COMBINAÇÃO FARMACÊUTICA SINÉRGICA COMPREENDENDO ANTICORPOS QUE RECONHECEM, ESPECIFICAMENTE, CD38 E CITARABINA, E USOS DOS MESMOS

(51) Int.Cl.: A61K 39/00; A61K 31/00; A61P 35/00.

(30) Prioridade Unionista: 28/11/2008 EP 08291118.1.

(73) Titular(es): SANOFI.

(72) Inventor(es): PASCALE LEJEUNE; PATRICIA VRIGNAUD.

(86) Pedido PCT: PCT IB2009055391 de 27/11/2009

(87) Publicação PCT: WO 2010/061359 de 03/06/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 27/05/2011

(57) Resumo: COMBINAÇÕES ANTITUMORAIS CONTENDO OS ANTICORPOS RECONHECENDO ESPECIFICAMENTE CD38 E CITARABINA. A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo especificamente reconhecendo o CD38 e a citarabina.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMBINAÇÃO FARMACÊUTICA SINÉRGICA COMPREENDENDO ANTICORPOS QUE RECONHECEM, ESPECIFICAMENTE, CD38 E CITARABINA, E USOS DOS MESMOS**".

[0001] A presente invenção se refere às combinações dos anticorpos monoclonais direcionadas contra o CD38 e a citarabina os quais são terapeuticamente úteis no tratamento de doenças neoplásicas.

[0002] O CD38 é uma glicoproteína de transmembrana tipo II 45 kD com um longo domínio extracelular C-terminal e um curto domínio citoplásmico N-terminal. A proteína CD38 é uma ectoenzima bifuncional que pode catalisar a conversão de NAD⁺ em ADP-ribose cíclica (cADPR) e da mesma forma hidrolisar cADPR em ADP-ribose. O CD38 é super-regulado e tem sido envolvido em muitas malignidades hematopoéticas.

[0003] Os anticorpos monoclonais 38SB13, 38SB18, 38SB19, 38SB30, 38SB31, e 38SB39, que especificamente reconhecem o CD38, são descritos no Pedido PCT WO2008/047242. Os referidos anticorpos anti-CD38 são capazes de matar as células CD38⁺ por meio de três diferentes mecanismos citotóxicos, indução de apoptose, citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpo (ADCC), e citotoxicidade dependente de complemento (CDC). Além disso, estes anticorpos são capazes de diretamente induzir a apoptose das células CD38⁺, até mesmo sem a presença das células do estroma ou citocinas derivadas do estroma. A citarabina é um agente antimetabólico empregado na quimioterapia. Existe ainda uma necessidade de novos e eficazes medicamentos para o tratamento de câncer.

[0004] Tem sido agora constatado, e para esta invenção, que a eficácia dos anticorpos anti-CD38 humanizados pode ser consideravelmente melhorada quando é administrada em combinação com pelo menos uma substância que é terapeuticamente útil nos tratamentos

anticâncer e tem um mecanismo idêntico a ou diferente de um dentre os anticorpos anti-CD38 humanizados e que está limitado na presente invenção à citarabina.

[0005] O termo "anticorpo" é empregado aqui no mais amplo sentido e especificamente abrange os anticorpos monoclonais (incluindo os anticorpos monoclonais de tamanho natural) de qualquer isótipo, tais como, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, anticorpos policlonais, anticorpos multiespecíficos, anticorpos quiméricos, e fragmentos de anticorpo. Um anticorpo IgG típico é compreendido de duas cadeias pesadas idênticas e duas cadeias leves idênticas às quais são unidas por meio de ligações de dissulfeto. Cada cadeia leve e pesada contém uma região constante e uma região variável. Cada região variável contém três segmentos chamados "regiões de determinação de complementaridade" ("CDRs") ou "regiões hipervariáveis", as quais são principalmente responsáveis por ligar um epítipo de um antígeno. São geralmente referidos como CDR1, CDR2, e CDR3, numerados sequencialmente a partir do terminal de N. As porções mais altamente conservadas das regiões variáveis além das CDRs são chamadas as "regiões de estrutura".

[0006] Como empregado aqui, "V_H" ou "VH" se refere à região variável de uma cadeia pesada de imunoglobulina de um anticorpo, incluindo a cadeia pesada de um fragmento de Fv, scFv, dsFv, Fab, Fab' ou F(ab')₂. A referência a "V_L" ou "VL" se refere à região variável da cadeia leve de imunoglobulina de um anticorpo, incluindo a cadeia leve de um fragmento de Fv, scFv, dsFv, Fab, Fab' ou F(ab')₂.

[0007] O anticorpo 38SB13 compreende pelo menos uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 50 e pelo menos uma cadeia leve tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 38, a referida cadeia pesada compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido

consistindo em SEQ ID NOs: 1, 2, e 3, e a referida cadeia leve compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 4, 5, e 6.

[0008] O anticorpo 38SB18 compreende pelo menos uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 52 e pelo menos uma cadeia leve tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 40, a referida cadeia pesada compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 7, 8, e 9, e a referida cadeia leve compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 10, 11, e 12.

[0009] O anticorpo 38SB19 compreende pelo menos uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 54 e pelo menos uma cadeia leve tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 42, a referida cadeia pesada compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 13, 14, e 15, e a referida cadeia leve compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 16, 17, e 18.

[00010] O anticorpo 38SB30 compreende pelo menos uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 56 e pelo menos uma cadeia leve tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 44, a referida cadeia pesada compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 19, 20, e 21, e a referida cadeia leve compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 22, 23, e 24.

[00011] O anticorpo 38SB31 compreende pelo menos uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 58 e pelo menos uma cadeia leve tendo uma sequência de amino-

ácido consistindo em SEQ ID NO: 46, a referida cadeia pesada compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 25, 26, e 27, e a referida cadeia leve compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 28, 29, e 30.

[00012] O anticorpo 38SB39 compreende pelo menos uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 60 e pelo menos uma cadeia leve tendo uma sequência de aminoácido consistindo em SEQ ID NO: 48, a referida cadeia pesada compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 31, 32, e 33, e a referida cadeia leve compreendendo três CDRs sequenciais tendo as sequências de aminoácido consistindo em SEQ ID NOs: 34, 35, e 36.

[00013] As linhagens celulares de hibridoma produzindo os anticorpos anti-CD38 de murino 38SB13, 38SB18, 38SB19, 38SB30, 38SB31, e 38SB39 têm sido depositadas na American Type Culture Collection (10801 University Bid, Manassas, VA, 20110-2209, USA), em 21 de junho de 2006, sob os números de depósito PTA-7667, PTA-7669, PTA-7670, PTA-7666, PTA-7668, e PTA-7671, respectivamente (como descrito em WO 2008/047242).

[00014] O termo "anticorpo humanizado", como empregado aqui, se refere a um anticorpo quimérico o qual contem a sequência mínima derivada de imunoglobulina não humana. A meta da humanização é uma redução na imunogenicidade de um anticorpo xenogênico, tal como, um anticorpo de murino, para a introdução em um humano, ao mesmo tempo em que mantendo a afinidade de ligação total do antígeno e especificidade do anticorpo. Os anticorpos humanizados, ou anticorpos adaptados para a não rejeição por outros mamíferos, podem ser produzidos empregando-se diversas tecnologias, tais como, recomposição e enxerto da CDR. Como empregado aqui, a tecnologia

da recomposição emprega uma combinação de modelagem molecular, análise estatística e mutagênese para alterar as superfícies da não CDR das regiões variáveis do anticorpo para assemelharem-se as superfícies dos anticorpos conhecidos do hospedeiro alvo. A tecnologia do enxerto da CDR envolve a substituição das regiões de determinação de complementaridade de, por exemplo, um anticorpo de camundongo, em um domínio de estrutura humana, por exemplo, vide WO 92/22653. Os anticorpos quiméricos humanizados de preferência têm regiões constantes e regiões variáveis diferente das regiões de determinação de complementaridade (CDRs) derivadas substancialmente ou exclusivamente a partir das regiões do anticorpo humano correspondente e CDRs derivadas substancialmente ou exclusivamente a partir de um mamífero diferente de um humano.

[00015] As estratégias e os métodos para a recomposição dos anticorpos, e outros métodos para a redução da imunogenicidade dos anticorpos dentro de um diferente hospedeiro, são descritos na Patente dos Estados Unidos 5.639.641, que é aqui incorporada em sua totalidade por referência. Os anticorpos podem ser humanizados empregando uma variedade de outras técnicas incluindo enxerto de CDR (EP 0 239 400; WO 91/09967; as Patentes dos Estados Unidos Nos. 5.530.101; e 5.585.089), folheando ou recompondo (EP 0 592 106; EP 0 519 596; Padlan E. A., 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5): 489-498; Studnicka G. M. e *outros*, 1994, *Protein Engineering*, 7(6): 805-814; Roguska M.A. e *outros*, 1994, *PNAS*, 91: 969-973), baralhamento da cadeia (Patente dos Estados Unidos Nº. 5,565,332), e identificação para os resíduos flexíveis (PCT/US2008/074381). Os anticorpos humanos podem ser produzidos por meio de uma variedade de métodos conhecidos na técnica incluindo os métodos de exibição do fago. Vide, também, as Patentes dos Estados Unidos Nos. 4.444.887, 4.716.111, 5.545.806, e 5.814.318; e publicação de pedido de patente internacio-

nal números WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735, e WO 91/10741 (as referidas referências incorporadas por referência em suas totalidades).

[00016] Os anticorpos anti-CD38 da combinação farmacêutica da presente invenção são anticorpos humanizados que reconhecem as células CD38⁺ mortas e CD38 por meio de apoptose, ADCC e CDC. Em uma outra modalidade, os anticorpos humanizados da invenção são capazes de matar as referidas células CD38⁺ por meio de apoptose até mesmo na ausência das células do estroma ou citocinas derivadas do estroma.

[00017] Uma modalidade preferida de um tal anticorpo humanizado está um anticorpo 38SB13, 38SB18, 38SB19, 38SB30, 38SB31, ou 38SB39 humanizado, ou um fragmento de ligação de epítopo deste.

[00018] As CDRs dos anticorpos 38SB13, 38SB18, 38SB19, 38SB30, 38SB31, e 38SB39 são identificados por meio de modelagem e suas estruturas moleculares têm sido previstas. Deste modo, em uma modalidade, esta invenção fornece os anticorpos humanizados ou o fragmento de ligação de epítopo deste compreendendo uma ou mais CDRs tendo uma sequência de aminoácido selecionada a partir do grupo consistindo nas SEQ ID NOs: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 e 81. Em uma modalidade preferida de uma tal, uma versão humanizada de 38SB13 é fornecida, a qual compreende pelo menos uma cadeia pesada e pelo menos uma cadeia leve, em que a referida cadeia pesada compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 1, 2, e 3, e em que a referida cadeia leve compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 4, 5, e 6. Em outra modalidade preferida, uma versão hu-

manizada de 38SB18 é fornecida, a qual compreende pelo menos uma cadeia pesada e pelo menos uma cadeia leve, em que a referida cadeia pesada compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 7, 8, e 9, e em que a referida cadeia leve compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 10, 11, e 12. Em outra modalidade preferida, uma versão humanizada de 38SB19 é fornecida, a qual compreende pelo menos uma cadeia pesada e pelo menos uma cadeia leve, em que a referida cadeia pesada compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 13, 81, e 15, e em que a referida cadeia leve compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 16, 17, e 18. Em outra modalidade preferida, uma versão humanizada de 38SB30 é fornecida, a qual compreende pelo menos uma cadeia pesada e pelo menos uma cadeia leve, em que a referida cadeia pesada compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 19, 20, e 21, e em que a referida cadeia leve compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 22, 23, e 24. Em outra modalidade preferida, uma versão humanizada de 38SB31 é fornecida, a qual compreende pelo menos uma cadeia pesada e pelo menos uma cadeia leve, em que a referida cadeia pesada compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 25, 26, e 27, e em que a referida cadeia leve compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as

sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 28, 29, e 30. Em outra modalidade preferida, uma versão humanizada de 38SB39 é fornecida, a qual compreende pelo menos uma cadeia pesada e pelo menos uma cadeia leve, em que a referida cadeia pesada compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 31, 32, e 33, e em que a referida cadeia leve compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais tendo as sequências de aminoácido representadas pelas SEQ ID NOs: 34, 35, e 36.

[00019] Em uma modalidade, esta invenção fornece os seus fragmentos ou anticorpos humanizados os quais compreendem uma V_H tendo uma sequência de aminoácido selecionada a partir do grupo das SEQ ID NOs: 66 e 72. Em uma modalidade preferida de um tal, um anticorpo 38SB19 humanizado é fornecido o qual compreende uma V_H tendo uma sequência de aminoácido representada por SEQ ID NO: 66. Em outra modalidade preferida, um anticorpo 38SB31 humanizado é fornecido o qual compreende uma V_H tendo uma sequência de aminoácido representada por SEQ ID NO: 72.

[00020] Em outra modalidade, esta invenção fornece os seus fragmentos ou anticorpos humanizados os quais compreendem uma V_L tendo uma sequência de aminoácido selecionada a partir do grupo das SEQ ID NOs: 62, 64, 68, e 70. Em uma modalidade preferida de um tal, um anticorpo 38SB19 humanizado é fornecido o qual compreende uma V_L tendo uma sequência de aminoácido escolhida a partir do grupo das SEQ ID NOs: 62 e 64. Em outra modalidade preferida, um anticorpo 38SB31 humanizado é fornecido o qual compreende uma V_L tendo uma sequência de aminoácido escolhida a partir do grupo das SEQ ID NOs: 68 e 70.

[00021] Cada uma das versões humanizadas dos anticorpos

38SB13, 38SB18, 38SB19, 38SB30, 38SB31, e 38SB39 tem sido mostrada ser particularmente vantajosa como um agente anticâncer. A preparação, as propriedades físicas e propriedades farmacológicas benéficas destes são descritas em WO 2008/047242, que é incorporada por referência aqui em sua totalidade. De modo geral, as doses empregadas para o tratamento em seres humanos, que depende dos fatores distintivos para o paciente a ser tratado, estão entre 1 e 150 mg/ kg administrados oralmente ou entre 1 e 150 mg/ kg administradas intravenosamente.

[00022] A citosina arabinosídeo ou a citarabina ou a araC (nome da marca registrada: Aracytin™) é um agente antimetabólico (1 β -arabinofuranosilcitosina). A citarabina é rapidamente convertida em citosina arabinosídeo trifosfato, que danifica o DNA quando o ciclo celular está na fase S (síntese de DNA). Rapidamente dividindo as células, que requerem replicação de DNA para mitose, são por esse motivo mais afetadas. A citarabina da mesma forma inibe ambas enzimas DNA redutase e RNA polimerases e nucleotídeos necessários para a síntese de DNA.

[00023] A citarabina é rapidamente desaminada no corpo para o derivado de uracila inativo e por esse motivo é muitas vezes administrada por meio de infusão intravenosa contínua.

[00024] Um aspecto da invenção é uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo anti-CD38 em combinação com pelo menos a citarabina. Uma vez que a atividade dos produtos depende das doses empregadas, é deste modo possível empregar doses menores e aumentar a atividade, ao mesmo tempo em que, diminuindo os fenômenos da toxicidade. A eficácia melhorada de uma combinação, de acordo com a invenção, pode ser demonstrada por meio da conclusão da sinergia terapêutica. Uma combinação manifesta a sinergia terapêutica se é terapeuticamente superior ao melhor agente do estudo

empregado apenas em sua dose máxima tolerada ou em sua dose mais alta testada quando a toxicidade pode não ser alcançada na espécie animal.

[00025] Esta eficácia pode ser quantificada, por exemplo, pela morte da célula $\log_{10}$, a qual é determinada de acordo com a fórmula que segue:

$$\text{morte da célula } \log_{10} = T - C \text{ (dias)} / 3,32^{\times} T_d$$

em que T - C representa o retardamento do crescimento do tumor, que é o tempo médio em dias para os tumores do grupo tratado (T) e os tumores do grupo de controle (C) para alcançar um valor predeterminado (1 g por exemplo), e T_d representa o tempo em dias necessários para o volume do tumor dobrar nos animais de controle [T. H. Corbett e outros, *Cancer*, 40: 2660-2680 (1977); F. M. Schabel e outros, *Cancer Drug Development*, Parte B, Methods in Cancer Research, 17: 3-51, New York, Academic Press Inc. (1979)]. Um produto é considerado ser ativo se a morte da célula $\log_{10}$ é maior do que ou igual a 0,7. Um produto é considerado ser muito ativo se a morte da célula $\log_{10}$ é maior do que 2,8.

[00026] A combinação, em que cada um dos componentes deve estar presente em uma dose de modo geral não excedendo sua dose máxima tolerada, deve manifestar a sinergia terapêutica quando a morte da célula $\log_{10}$ é maior do que o valor da morte da célula $\log_{10}$ do melhor componente quando é administrado sozinho e empregado em sua dose máxima tolerada ou em sua dose mais elevada testada.

[00027] A eficácia das combinações nos tumores sólidos pode ser determinada experimentalmente do modo que segue:

[00028] Os animais submetidos ao experimento, de modo geral camundongos, são subcutaneamente enxertados bilateralmente com de 30 a 60 mg de um fragmento do tumor no dia 0. Os animais sofrendo de tumores são aleatorizados com base em seu tamanho de tumor an-

tes de serem submetidos aos vários tratamentos e controles. A quimioterapia começa quando os tumores têm alcançado um tamanho predefinido após o enxerto, dependendo do tipo de tumor, e os animais são observados todos os dias. Os diferentes grupos de animais são pesados diariamente durante o tratamento até que a perda máxima de peso é alcançada e subsequente completa recuperação de peso tenha ocorrido. Os grupos são em seguida pesados uma ou duas vezes por semana até o término do teste.

[00029] Os tumores são medidos de 1 a 5 vezes por semana, dependendo do tempo de duplicação do tumor, até que o tumor alcance aproximadamente 2 g, ou até que o animal morra (se isto ocorre antes de que o tumor alcance 2 g). Os animais são necropsiados imediatamente após a eutanásia ou a morte.

[00030] A atividade antitumor é determinada de acordo com os diferentes parâmetros registrados.

[00031] Os resultados obtidos com as combinações de hu38SB19 e da citarabina empregada em suas doses ideais são indicados neste contexto como os exemplos.

[00032] A presente invenção da mesma forma se refere, por esse motivo, as composições farmacêuticas contendo as combinações de acordo com a invenção.

[00033] Os componentes cuja combinação é composta, podem ser administrados simultaneamente, semissimultaneamente, separadamente, ou espaçados durante um período de tempo a fim de obter a eficácia máxima da combinação; sendo possível para cada administração variar em sua duração a partir de uma rápida administração para uma perfusão contínua.

[00034] Como um resultado, para os propósitos da presente invenção, as combinações não estão exclusivamente limitadas àquelas que são obtidas por meio da associação física dos componentes, mas da

mesma forma àquelas que permitem uma administração separada, que pode ser simultânea ou espaçada durante um período de tempo.

[00035] As composições de acordo com a invenção são de preferência as composições que podem ser administradas parentalmente. De qualquer modo, estas composições podem ser administradas oralmente, subcutaneamente ou intraperitonealmente no caso das terapias regionais localizadas.

[00036] As composições para a administração parental são de modo geral farmacologicamente aceitáveis, suspensões ou soluções estéreis que podem opcionalmente ser preparadas quando necessário no momento do uso. Para a preparação de soluções ou suspensões não aquosas, óleos vegetais naturais, tais como, azeite de oliva, óleo de gergelim ou petróleo líquido ou ésteres orgânicos injetáveis, tal como, o oleato de etila pode ser empregado. As soluções aquosas estéreis podem consistir em uma solução do produto em água. As soluções aquosas são adequadas para administração intravenosa forneceram o pH é apropriadamente ajustável e a solução é produzida isotônica, por exemplo, com uma quantidade suficiente de cloreto de sódio e glicose. A esterilização pode ser realizada por meio do aquecimento ou por qualquer outro meio que não adversamente afeta a composição. As combinações podem da mesma forma, empregar a forma de lipossomas ou a forma de uma associação com os portadores como ciclodextrinas ou polietilenos glicóis.

[00037] As composições para administração oral, subcutânea ou intraperitoneal são de preferência suspensões ou soluções aquosas.

[00038] Nas combinações de acordo com a invenção, a aplicação dos componentes a qual pode ser simultânea, separada ou espaçada durante um período de tempo, é especialmente vantajosa para a quantidade de anticorpo anti-CD38 humanizados representa de 10 a 90 % em peso da combinação, sendo possível para este teor variar de acor-

do com a natureza da substância associada, a eficácia procurada e a natureza do câncer a ser tratado.

[00039] As combinações de acordo com a invenção são especialmente úteis no tratamento de diversos tipos de cânceres incluindo (mas não limitadas a) o que segue: carcinomas e adenocarcinomas, incluindo aqueles da bexiga, do seio, do cólon, da cabeça e do pescoço, próstata, do rim, do fígado, de pulmão, do ovário, de pâncreas, do estômago, da cérvix, tireoide e da pele, e incluindo carcinoma de célula escamosa; tumores hematopoéticos da linhagem linfóide, incluindo mieloma múltiplo, leucemia, leucemia linfocítica crônica e aguda (ou linfóide), leucemia linfoblástica aguda e crônica, linfoma de células B, linfoma de célula T, linfoma de não Hodgkin (por exemplo, linfoma de Burkitt); tumores hematopoéticos da linhagem mieloide, incluindo leucemias mielógenas crônicas e agudas (mieloide ou mielocítica), e leucemia promielocítica; tumores de origem mesenquimal, incluindo fibrossarcoma, osteossarcoma e rabdomiossarcoma; tumores do sistema nervoso periférico e central, incluindo astrocitoma, neuroblastoma, glioma, e schwannomas; e outros tumores, incluindo melanoma, teratocarcinoma, xenoderoma pigmentoso, ceratoacantoma, e seminoma, e outros cânceres ainda a serem determinados em que CD38 é expresso. São principalmente úteis para o tratamento da leucemia, linfoma e cânceres resistentes aos agentes anticâncer geralmente empregados quando os anticorpos anti-CD38 anticorpos têm um único mecanismo de ação.

[00040] Deste modo, a invenção da mesma forma abrange o uso das combinações acima para a fabricação de um medicamento para o tratamento do câncer.

Exemplo:

[00041] Neste exemplo, a eficácia de uma combinação de anticorpo anti-CD38/ citarabina da invenção para a inibição do crescimento do

tumor foi demonstrada *in vivo*.

[00042] O modelo de tumor selecionado foi uma linhagem de células de leucemia linfoblástica aguda de células T (T-ALL) humana transplantável, DND-41, implantado nos camundongos SCID.

[00043] Hu38SB19 foi formulado em salina de tampão de fosfato, sem Ca^{2+} e Mg^{2+} , pH7.4. Hu38SB19 foi administrado intravenosamente nos dias 18, 21, 24, 27 após o implante do tumor.

[00044] *Palmo Ara-C*, um derivado adequado de citarabina para administração de liberação lenta em camundongos, foi formulado em 3 % de etanol, 1 % de polissorbato 80, 96 % de água, e fomos administrados subcutaneamente nos dias 18, 21, 24, 27 após o implante do tumor.

[00045] Os resultados do experimento são registrados na tabela 1.

[00046] Tempo de duplicação do tumor = 3,4 dias.

[00047] As metas que seguem foram empregadas:

- A toxicidade foi declarada na indução de dosagens ≥ 20 % de perda do peso corporal ou ≥ 10 % de morte do fármaco.

- A eficácia antitumor foi determinada por meio da avaliação da morte da célula $\log_{10} = (T-C) / [3,32 \times (\text{tempo de duplicação do tumor em dias})]$

(T significa o tempo médio dos camundongos tratados para alcançar 750 mg e C o tempo médio (26,9 dias) dos camundongos de controle para alcançar o mesmo tamanho; os sobreviventes livres de tumor são excluídos destes cálculos e são tabulados separadamente). Nenhuma atividade antitumor foi declarada por morte da célula $\log < 0,7$, e o tratamento foi declarado altamente ativo para a morte da célula $\log \geq 2,8$

- Sobreviventes Livres do Tumor (TFS): correspondem à completa regressão abaixo do limite de palpação (63 mg) para a completa duração do estudo (> 100 dias após o último tratamento).

- Sinergismo Terapêutico: uma combinação tem o sinergismo terapêutico se é mais ativo do que o melhor agente único do estudo (por pelo menos 1 morte da célula log).

[00048] A toxicidade para *Palmo Ara-C* sozinha foi observada em uma dose de 96,3 mg/ kg/ injeção, com 6 mortes relacionadas ao fármaco dos 6 camundongos tratados. A dose mais elevada não tóxica (HNTD) para *Palmo Ara-C* foi de 58,0 mg/ kg/ injeção (dose total injetada = 232,0 mg/ kg). A dose de 58,0 mg/ kg/ injeção foi constatado ser altamente ativa com uma morte da célula $\log_{10}$ de 5,4 e 3/6 dos TFS no dia 160. A dose abaixo de 36,0 mg/ kg/ injeção (dose total injetada = 144,0 mg/ kg) foi da mesma forma constatada ser altamente ativa com uma morte da célula $\log_{10}$ de 4,3. A dose mais baixa de 22,3 mg/ kg/ injeção foi ativa com uma morte de da célula $\log_{10}$ de 2,0.

[00049] Considerando hu38SB19, o produto foi bem tolerado em uma dose de 40 mg/ kg/ injeção. Nenhuma toxicidade foi observada, que pode ser explicada pela falta de reatividade cruzada do anticorpo com murino CD38. A morte da célula $\log_{10}$ foi de 0,5, indicando que hu38DB19 não foi ativo sob essas condições.

[00050] A combinação de *Palmo Ara-C* em 96,3 mg/ kg/ injeção e hu38SB19 em 40 mg/ kg/ injeção foi tóxica, com 5 mortes relacionadas ao fármaco dos 6 camundongos tratados, isto é, muito similar ao qual foi observado com *Palmo Ara-C* sozinha na mesma dose. A dose de 58,0 mg/ kg/ injeção de *Palmo Ara-C* com 40 mg/ kg/ injeção de hu38SB19 foi considerada ser a HNTD. Extraordinariamente, nesta dose, 5 dos 6 camundongos permaneceram TFS até o final do estudo (dia 160). A dose menor de 36,0 mg/ kg/ injeção de *Palmo Ara-C* com 40 mg/ kg/ injeção de hu38SB19 apresentou uma morte da célula $\log_{10}$ de 8,1 e 3/6 dos TFS em comparação a uma morte da célula $\log_{10}$ de 4,3 e nenhum TFS para a dose equitóxica de *Palmo Ara-C* sozinha e foi deste modo considerada altamente ativa. Uma atividade antitumor

de 2,7 da morte da célula $\log_{10}$ foi registrada para a dose inferior da combinação (em comparação a 2,0 da morte da célula $\log_{10}$ para a dose equitóxica de *Palmo Ara-C* sozinha. Nós concluímos que a combinação mostra um sinergismo terapêutico em comparação ao melhor agente único do estudo, *Palmo Ara-C*.

Tabela I: Combinação de hu38SB19 e *Palmo Ara-C* com linfoblástica leucemia DND-41 aguda da célula T humana avançada implantada em camundongos femininos SCID.

Dose mg/Kg/inj (dose total)		Agenda (dias)	Toxidade	% BWC em nadir	T-C	morte da célula log ₁₀	TFS	
hu38SB19 IV 40,0 (160,0)	<i>Palmo Ara-C</i> -	18, 21, 24, 27	0/6	-2,1 (19)	6,1	0,5	0/6	HDT – Inativa
-	96,3 (385,2)	18, 21, 24, 27	6/6	-26,6 (31)	-	-	-	Tóxica
-	58,0 (232,0)		0/6	-6,1 (31)	60,5	5,4	3/6	HNTD - altamente ativa Altamente ativa
-	36,0 (144,0)		0/6	-4,6 (30)	48,6	4,3	0/6	Ativa
-	22,3 (89,2)		0/6	-0,5 (32)	22,1	2,0	0/6	
40,0 (160,0)	96,3 (385,2)	18, 21, 24, 27	5/6	-21,6 (34)	-	-	-	Tóxica
40,0 (160,0)	58,0 (232,0)		0/6	-6,5 (30)	90,9 30,8		5/6	HNTD - altamente ativa Altamente ativa
40,0 (160,0)	36,0 (144,0)		0/6	-3,2 (31)		8,1	3/6	Ativa
40,0 (160,0)	22,3 (89,2)		0/6	-1,7 (19)		2,7	0/6	

Tempo de duplicação do tumor = 3,4 dias. Tamanho médio de tumor no início da terapia = de 124 a 136 mg. Tempo para o controle mediano para alcançar 750 mg = 26,9 dias. BWC = mudança do peso do corpo, T-C = retardamento do crescimento do tumor, HDT = dose mais elevada testada, HNTD = dose mais elevada não tóxica, TFS = sobreviventes livre de tumor, IV = intravenoso, SC = subcutâneo,. Formulações: hu38SB19 = salina de tampão de fosfato sem Ca²⁺ e Mg²⁺, pH 7,4, *Palmo Ara-C* = 3 % de etanol, 1 % de polissorbato 80, 96 % de água.

REIVINDICAÇÕES

1. Combinação farmacêutica sinérgica, caracterizada pelo fato de que compreende um anticorpo que reconhece especificamente CD38 e pelo menos citarabina, em que o referido anticorpo é capaz de matar uma célula CD38⁺ por apoptose, citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo (ADCC), e citotoxicidade dependente de complemento (CDC),

em que o referido anticorpo é uma versão humanizada do anticorpo murino 38SB19, em que a cadeia pesada do referido anticorpo murino 38SB19 compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais, apresentando sequências de aminoácidos representadas pelas SEQ ID NOS: 13, 14 e 15, e em que a cadeia leve do referido anticorpo 38SB19 compreende três regiões determinantes de complementaridade sequenciais apresentando sequências de aminoácidos representadas pelas SEQ ID NOS: 16, 17 e 18.

2. Combinação farmacêutica sinérgica, caracterizada pelo fato de que compreende um anticorpo hu38SB19 e pelo menos citarabina, na qual o anticorpo hu38SB19 apresenta uma cadeia pesada de acordo com a SEQ ID NO: 66 e uma cadeia leve selecionada a partir do grupo de SEQ ID NOS: 62 e 64.

3. Combinação farmacêutica sinérgica, caracterizada pelo fato de que compreende um anticorpo que reconhece especificamente CD38 e pelo menos citarabina, em que o referido anticorpo consiste em:

- uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; e
- uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 66.

4. Uso de um anticorpo que reconhece, especificamente, CD38, caracterizado pelo fato de que é para a preparação de uma combinação farmacêutica sinérgica, como definida na reivindicação 1.

5. Uso de uma combinação farmacêutica sinérgica, como definida na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o tratamento do câncer.

6. Uso, de acordo com a reivindicação 4 ou 5, caracterizado pelo fato de que o câncer é selecionado do grupo que consiste em mieloma múltiplo, leucemia, leucemia linfocítica aguda e crônica, leucemia linfoblástica aguda e crônica, linfoma de células B, linfoma de células T, não-Linfoma de Hodgkin; leucemias mielógenas agudas e crônicas e leucemia promielocítica.