

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202092824** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2021.04.26**

(22) Дата подачи заявки  
**2019.07.08**

(51) Int. Cl. *A61K 31/5517* (2006.01)  
*A61K 31/7068* (2006.01)  
*A61K 47/68* (2017.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

---

(54) **КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ**

---

(31) **1811364.7**

(32) **2018.07.11**

(33) **GB**

(86) **PCT/EP2019/068287**

(87) **WO 2020/011724 2020.01.16**

(71) Заявитель:  
**АДС ТЕРАПЬЮТИКС СА (СН);  
МЕДИМБЬОН ЛИМИТЕД (GB)**

(72) Изобретатель:

**Ван Беркел Патрисиус Хендрикус  
Корнелис, Заммарчи Франческа,  
Хартли Джон (GB)**

(74) Представитель:

**Нилова М.И. (RU)**

---

(57) Настоящее изобретение относится к вариантам комбинированной терапии для лечения патологических состояний, таких как рак. В частности, настоящее изобретение относится к комбинированной терапии, включающей лечение с помощью ADC к CD25 и гемцитабина.

**202092824**

**A1**

**A1**

**202092824**

# КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

## ПРЕДШЕСТВУЮЩАЯ ЗАЯВКА

Данная заявка испрашивает приоритет по заявке на патент Великобритании GB1811364.7, поданной 11 июля 2018 г.

## ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к вариантам комбинированной терапии для лечения патологических состояний, таких как рак. В частности, настоящее изобретение относится к вариантам комбинированной терапии, включающим лечение конъюгатом антитело-лекарственное средство (ADC - англ.: Antibody Drug Conjugate) и гемцитабином или 5-фторурацилом.

## УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

### Терапия антителами

Терапия антителами была разработана для целенаправленного лечения субъектов, имеющих рак, иммунологические и ангиогенные расстройства (Carter, P. (2006) *Nature Reviews Immunology* 6:343-357). Использование конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC), то есть иммуноконъюгатов, для местной доставки цитотоксических или цитостатических агентов, то есть лекарственных средств для уничтожения или ингибирования опухолевых клеток при лечении рака, нацелено на доставку лекарственного компонента к опухолям и внутриклеточное накопление при этом, в то время как системное введение этих неконъюгированных лекарственных средств может привести к неприемлемым уровням токсичности для нормальных клеток (Xie *et al* (2006) *Expert. Opin. Biol. Ther.* 6(3):281-291; Kovtun *et al* (2006) *Cancer Res.* 66(6):3214-3121; Law *et al* (2006) *Cancer Res.* 66(4):2328-2337; Wu *et al* (2005) *Nature Biotech.* 23(9):1137-1145; Lambert J. (2005) *Current Opin. in Pharmacol.* 5:543-549; Hamann P. (2005) *Expert Opin. Ther. Patents* 15(9):1087-1103; Payne, G. (2003) *Cancer Cell* 3:207-212; Trail *et al* (2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:328-337; Syrigos and Epenetos (1999) *Anticancer Research* 19:605-614).

### CD25

Трансмембранный белок CD25 типа I присутствует на активированных Т- и В-клетках, некоторых тимоцитах, миелоидных предшественниках и олигодендроцитах. На активированных Т-клетках он образует гетеродимеры с бета- и гамма-субъединицами (CD122 и CD132), таким образом, составляя рецептор с высоким сродством к IL-2. Этот

лиганд представляет собой фактор выживания для активированных Т-клеток, поскольку удаление IL-2 приводит к немедленной гибели этих клеток.

В случае В-клеток CD25 физиологически экспрессируется на ранних стадиях развития поздних про-В и пре-В-клеток. Таким образом, злокачественные новообразования, возникающие на этой стадии дифференцировки В-клеток, также могут экспрессировать CD25. Поражения тучных клеток также положительны на CD25, который, таким образом, считается ключевым диагностическим критерием для определения системного мастоцитоза. Сообщается, что CD25 не экспрессируется в клетках Ходжкина/Рид — Штернберга при нодулярной лимфоме Ходжкина с лимфоидным преобладанием (NLPHL), тогда как тот же тип клеток экспрессирует CD25 на различных уровнях при классических лимфомах Ходжкина со смешанным типом насыщенности клетками. Сообщается, что общие уровни экспрессии ниже, чем в лимфоцитах, инфильтрирующих опухоль (TIL), что может привести к проблемам с демонстрацией опухолевых клеток CD25 в этих случаях (Levi et al., Merz et al, 1995).

Об экспрессии целевого антигена также сообщалось для нескольких подтипов неходжкинских лимфом, происходящих из В- и Т-клеток, например, для В-клеточного хронического лимфатического лейкоза, волосатоклеточного лейкоза, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы/хронического лимфоцитарного лейкоза, а также для Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых и анапластической крупноклеточной лимфомы.

CD25 может быть локализован на мембране, при этом в цитоплазме наблюдается некоторая экспрессия. Растворимый CD25 также можно наблюдать вне клеток, например, в сыворотке.

### **Терапевтическое использование ADC к CD25.**

Была установлена эффективность конъюгата антитело-лекарственное средство, содержащего антитело к CD25 (анти-CD25-ADC), в лечении, например, рака, - см., например, WO2014/057119, WO2016/083468 и WO2016/166341.

Продолжаются исследования, направленные на дальнейшее улучшение эффективности, переносимости и клинического использования ADC к CD25. С этой целью авторы настоящего изобретения определили клинически выгодные комбинированные способы лечения, при которых ADC к CD25 вводят в комбинации с гемцитабином или 5-фторурацилом.

## СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Авторы настоящего изобретения установили, что введение индивидууму комбинации ADC и гемцитабина или 5-фторурацила приводит к неожиданным клиническим преимуществам.

Соответственно, в одном аспекте в описании предложен способ лечения расстройства у индивидуума, при этом способ включает введение индивидууму эффективного количества ADC и гемцитабина или 5-фторурацила.

Расстройство может представлять собой пролиферативное заболевание, например, рак, такой как лимфома Ходжкина и неходжкинская лимфома, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ) и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ).

Проллиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

Проллиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток, необязательно, где CD25-отрицательные неопластические клетки ассоциированы с CD25-положительными неопухолевыми клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки.

Целевое новообразование или неопластические клетки могут быть всей или частью солидной опухоли.

Следует понимать, что «солидная опухоль» в настоящем документе включает солидные гематологические злокачественные опухоли, такие как лимфомы (лимфома Ходжкина или неходжкинская лимфома), которые более подробно обсуждаются в данном документе.

Солидные опухоли могут представлять собой новообразования, включая негематологические злокачественные опухоли, содержащие или состоящие из CD25-положительных неопластических клеток. Солидные опухоли могут быть

новообразованиями, включая негематологические злокачественные опухоли, инфильтрованные CD25-положительными клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки; в таких солидных опухолях может отсутствовать экспрессия CD25 (т.е., они могут состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток).

Например, солидная опухоль может быть опухолью с высоким уровнем инфильтрирующих Т-клеток, таких как инфильтрирующие регуляторные Т-клетки (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 2017 Jan;27(1):109-118). Соответственно, солидная опухоль может представлять собой рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному и рак головы и шеи.

ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, например, описанный в данном документе ADCX25.

ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, например, ADCT-301.

Индивидуум может являться человеком. Индивидуум может иметь рак или было установлено, что он имеет рак. Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет CD25+ рак или CD25+ ассоциированные с опухолью неопухолевыми клетками, такие как инфильтрирующие CD25+ Т-клетки.

Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет PD-L1+ рак.

В раскрытых способах ADC может быть введен до гемцитабина или 5-фторурацила, одновременно с гемцитабином или 5-фторурацилом, или после гемцитабина или 5-фторурацила. Раскрытые способы могут включать введение индивидууму дополнительного химиотерапевтического агента.

-----

В другом аспекте в настоящем описании предложена первая композиция, содержащая ADC, для использования в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей гемцитабин или 5-фторурацил.

В этом аспекте также предложена первая композиция, содержащая гемцитабин или 5-фторурацил, для использования в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей ADC.

Расстройство может представлять собой пролиферативное заболевание, например, рак, такой как лимфома Ходжкина и неходжкинская лимфома, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ) и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ).

Пролиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

Пролиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток, необязательно, где CD25-отрицательные неопластические клетки ассоциированы с CD25-положительными неопухолевыми клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки.

Целевое новообразование или неопластические клетки могут быть всей или частью солидной опухоли.

Следует понимать, что «солидная опухоль» в настоящем документе включает солидные гематологические злокачественные опухоли, такие как лимфомы (лимфома Ходжкина или неходжкинская лимфома), которые более подробно обсуждаются в данном документе.

Солидные опухоли могут представлять собой новообразования, включая негематологические злокачественные опухоли, содержащие или состоящие из CD25-положительных неопластических клеток. Солидные опухоли могут быть новообразованиями, включая негематологические злокачественные опухоли, инфильтрованные CD25-положительными клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки; в таких солидных опухолях может отсутствовать экспрессия CD25 (т.е., они могут состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток).

Например, солидная опухоль может быть опухолью с высоким уровнем инфильтрирующих Т-клеток, таких как инфильтрирующие регуляторные Т-клетки (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 2017 Jan;27(1):109-118). Соответственно, солидная опухоль может представлять собой рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному и рак головы и шеи.

ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, например, описанный в данном документе ADCX25.

ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, например, ADCT-301.

Индивидуум может являться человеком. Индивидуум может иметь рак или было установлено, что он имеет рак. Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет CD25+ рак или CD25+ ассоциированные с опухолью неопухолевые клетки, такие как инфильтрирующие CD25+ Т-клетки.

Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет PD-L1+ рак.

Первую композицию можно вводить перед второй композицией, одновременно со второй композицией или после второй композиции. Лечение может включать введение индивидууму дополнительного химиотерапевтического агента.

-----

В дополнительном аспекте настоящего изобретения предложено использование ADC в производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума, в котором лекарственное средство включает ADC, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей гемцитабин или 5-фторурацил.

В этом аспекте также предложено использование гемцитабина или 5-фторурацила при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума, в котором лекарственное средство включает гемцитабин или 5-фторурацил, и в котором

лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей ADC.

Расстройство может представлять собой пролиферативное заболевание, например, рак, такой как лимфома Ходжкина и неходжкинская лимфома, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ) и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ).

Пролиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

Пролиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток, необязательно, где CD25-отрицательные неопластические клетки ассоциированы с CD25-положительными неопухолевыми клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки.

Целевое новообразование или неопластические клетки могут быть всей или частью солидной опухоли.

Следует понимать, что «солидная опухоль» в настоящем документе включает солидные гематологические злокачественные опухоли, такие как лимфомы (лимфома Ходжкина или неходжкинская лимфома), которые более подробно обсуждаются в данном документе.

Солидные опухоли могут представлять собой новообразования, включая негематологические злокачественные опухоли, содержащие или состоящие из CD25-положительных неопластических клеток. Солидные опухоли могут быть новообразованиями, включая негематологические злокачественные опухоли, инфильтрованные CD25-положительными клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки; в таких солидных опухолях может отсутствовать экспрессия CD25 (т.е., они могут состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток).

Например, солидная опухоль может быть опухолью с высоким уровнем инфильтрирующих Т-клеток, таких как инфильтрирующие регуляторные Т-клетки (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 2017 Jan;27(1):109-118). Соответственно, солидная опухоль может представлять собой рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному и рак головы и шеи.

ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, например, описанный в данном документе ADCX25.

ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, например, ADCT-301.

Индивидуум может являться человеком. Индивидуум может иметь рак или было установлено, что он имеет рак. Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет CD25+ рак или CD25+ ассоциированные с опухолью неопухолевые клетки, такие как инфильтрирующие CD25+ Т-клетки.

Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет PD-L1+ рак.

Лекарственное средство может быть введено до композиции, одновременно с композицией или после композиции. Лечение может включать введение индивидууму дополнительного химиотерапевтического агента.

-----

В другом аспекте настоящего изобретения предлагается набор, содержащий:

первое лекарственное средство, содержащее ADC;

второе лекарственное средство, содержащее гемцитабин или 5-фторурацил; и, необязательно,

листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению первого лекарственного средства индивидууму в комбинации со вторым лекарственным средством для лечения расстройства.

В этом аспекте также предложен набор, содержащий лекарственное средство, содержащее ADC, и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению

лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей гемцитабин или 5-фторурацил, для лечения расстройства.

Кроме того, в этом аспекте предложен набор, содержащий лекарственное средство, содержащее гемцитабин или 5-фторурацил, и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей ADC, для лечения расстройства.

Расстройство может представлять собой пролиферативное заболевание, например, рак, такой как лимфома Ходжкина и неходжкинская лимфома, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ) и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ).

Пролиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

Пролиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток, необязательно, где CD25-отрицательные неопластические клетки ассоциированы с CD25-положительными неопухолевыми клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки.

Целевое новообразование или неопластические клетки могут быть всей или частью солидной опухоли.

Следует понимать, что «солидная опухоль» в настоящем документе включает солидные гематологические злокачественные опухоли, такие как лимфомы (лимфома Ходжкина или неходжкинская лимфома), которые более подробно обсуждаются в данном документе.

Солидные опухоли могут представлять собой новообразования, включая негематологические злокачественные опухоли, содержащие или состоящие из CD25-положительных неопластических клеток. Солидные опухоли могут быть новообразованиями, включая негематологические злокачественные опухоли,

инфильтрованные CD25-положительными клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки; в таких солидных опухолях может отсутствовать экспрессия CD25 (т.е., они могут состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток).

Например, солидная опухоль может быть опухолью с высоким уровнем инфильтрирующих Т-клеток, таких как инфильтрирующие регуляторные Т-клетки (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 2017 Jan;27(1):109-118). Соответственно, солидная опухоль может представлять собой рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному и рак головы и шеи.

ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, например, описанный в данном документе ADCX25.

ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, например, ADCT-301.

Индивидуум может являться человеком. Индивидуум может иметь рак или было установлено, что он имеет рак. Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет CD25+ рак или CD25+ ассоциированные с опухолью неопухолевые клетки, такие как инфильтрирующие CD25+ Т-клетки.

Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет PD-L1+ рак.

Лекарственное средство или композиция, содержащая ADC, может быть введена перед лекарственным средством или композицией, содержащей гемцитабин или 5-фторурацил, одновременно с лекарственным средством или композицией, содержащей гемцитабин или 5-фторурацил, или после лекарственного средства или композиции, содержащей гемцитабин или 5-фторурацил. Лечение может включать введение индивидууму дополнительного химиотерапевтического агента.

-----

В еще одном дополнительном аспекте в настоящем изобретении предложена композиция, содержащая ADC и гемцитабин, или 5-фторурацил.

В этом аспекте в настоящем изобретении также предложен способ лечения расстройства у индивидуума, в котором способ включает введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей ADC и гемцитабин, или 5-фторурацил.

В этом аспекте в настоящем изобретении также предложена композиция, содержащая ADC и гемцитабин, или 5-фторурацил, для использования в способе лечения расстройства у индивидуума.

В этом аспекте в настоящем изобретении также предложено использование композиции, содержащей ADC и гемцитабин, или 5-фторурацил, при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума.

В этом аспекте в настоящем изобретении также предложен набор, содержащий композицию, содержащую ADC и гемцитабин, или 5-фторурацил, и набор инструкций по введению лекарственного средства индивидууму для лечения расстройства.

Расстройство может представлять собой пролиферативное заболевание, например, рак, такой как лимфома Ходжкина и неходжкинская лимфома, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ) и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ).

Проллиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

Проллиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток, необязательно, где CD25-отрицательные неопластические клетки ассоциированы с CD25-положительными неопухолевыми клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки.

Целевое новообразование или неопластические клетки могут быть всей или частью солидной опухоли.

Следует понимать, что «солидная опухоль» в настоящем документе включает солидные гематологические злокачественные опухоли, такие как лимфомы (лимфома Ходжкина или неходжкинская лимфома), которые более подробно обсуждаются в данном документе.

Солидные опухоли могут представлять собой новообразования, включая негематологические злокачественные опухоли, содержащие или состоящие из CD25-положительных неопластических клеток. Солидные опухоли могут быть новообразованиями, включая негематологические злокачественные опухоли, инфильтрованные CD25-положительными клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки; в таких солидных опухолях может отсутствовать экспрессия CD25 (т.е., они могут состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток).

Например, солидная опухоль может быть опухолью с высоким уровнем инфильтрирующих Т-клеток, таких как инфильтрирующие регуляторные Т-клетки (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., *Targ Oncol* (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, *Immunity* 46, 1–10; Tanaka, A., et al., *Cell Res.* 2017 Jan;27(1):109-118). Соответственно, солидная опухоль может представлять собой рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному и рак головы и шеи.

ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, например, описанный в данном документе ADCX25.

ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, например, ADCT-301.

Индивидуум может являться человеком. Индивидуум может иметь рак или было установлено, что он имеет рак. Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет CD25+ рак или CD25+ ассоциированные с опухолью неопухолевыми клетки, такие как инфильтрирующие CD25+ Т-клетки.

Индивидуум может иметь или было установлено, что он имеет PD-L1+ рак.

Лечение может включать введение индивидууму дополнительного химиотерапевтического агента.

-----

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЕ

### Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC)

Настоящее изобретение относится к улучшенной эффективности комбинаций ADC и гемцитабина, или 5-фторурацила.

ADC может доставлять лекарственное средство в целевое место. Целевое место предпочтительно представляет собой популяцию пролиферативных клеток. Антитело представляет собой антитело к антигену, присутствующему в популяции пролиферативных клеток. В одном аспекте антиген отсутствует или присутствует на пониженном уровне в популяции непролиферативных клеток по сравнению с количеством антигена, присутствующим в популяции пролиферативных клеток, например, в популяции опухолевых клеток.

ADC может содержать линкер, который может расщепляться, чтобы высвободить лекарственное средство в целевом месте. Лекарственное средство может представлять собой соединение, выбранное из RelA, RelB, RelC, RelD или RelE. Таким образом, конъюгат можно использовать для выборочной доставки соединения RelA, RelB, Rel C, RelD или RelE в целевое место.

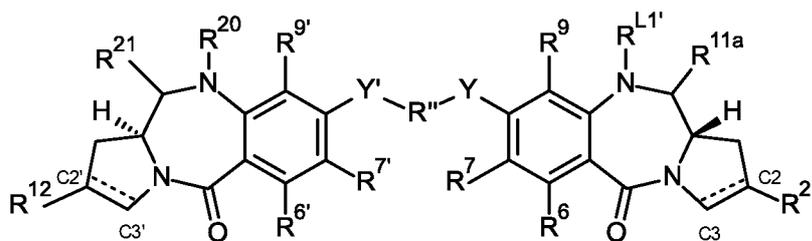
Линкер может быть расщеплен ферментом, присутствующим в целевом месте.

Настоящее изобретение, в частности, относится к лечению ADC к CD25, описанным в WO2014/057119 и описанным в данном документе.

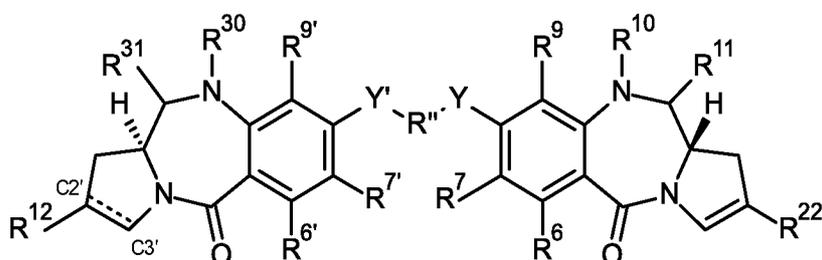
### ADC к CD25

Термин «CD25-ADC», в контексте настоящего изобретения, относится к ADC, в котором компонент антитела представляет собой антитело к CD25. Термин «PBD-ADC» относится к ADC, в котором лекарственный компонент представляет собой активную нагрузку пирролобензодиазепином (PBD). Термин «анти-CD25-ADC» относится к ADC, в котором компонент антитела представляет собой антитело к CD25, а компонент лекарственного средства представляет собой активную нагрузку PBD.

ADC может содержать конъюгат формулы L - (D<sup>L</sup>)<sub>p</sub>, где D<sup>L</sup> имеет формулу I или II:



I



II

где:

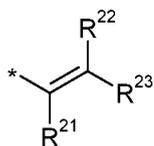
L представляет собой антитело (Ab), которое представляет собой антитело, связывающееся с CD25;

когда между C2' и C3' присутствует двойная связь, R<sup>12</sup> выбран из группы, состоящей из:

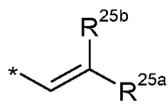
(ia) C<sub>5-10</sub> арильной группы, необязательно замещенной одним или более заместителями, выбранными из группы, включающей: галоген, нитро, циано, простой эфир, карбокси, сложный эфир, C<sub>1-7</sub> алкил, C<sub>3-7</sub> гетероцикл и бис-окси-C<sub>1-3</sub> алкилен;

(ib) C<sub>1-5</sub> насыщенного алифатического алкила;

(ic) C<sub>3-6</sub> насыщенного циклоалкила;

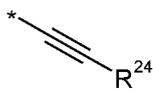


(id) , где каждый из R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> и R<sup>23</sup> независимо выбраны из H, C<sub>1-3</sub> насыщенного алкила C<sub>2-3</sub> алкенила, C<sub>2-3</sub> алкинила и циклопропила, где общее количество атомов углерода в R<sup>12</sup> группе составляет не более чем 5;



(ie) , где один из R<sup>25a</sup> и R<sup>25b</sup> представляет собой H, а другой выбран из:

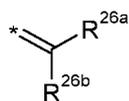
фенила, причем фенил необязательно замещен группой, выбранной из галогена, метила, метокси; пиридила; и тиофенила; и



(if) , где R<sup>24</sup> выбран из: H; C<sub>1-3</sub> насыщенного алкила C<sub>2-3</sub> алкенила; C<sub>2-3</sub>

алкинила; циклопропила; фенила, который необязательно замещен группой, выбранной из галогена, метила, метокси; пиридила; и тиофенила;

когда между C2' и C3' присутствует одинарная связь,



$R^{12}$  представляет собой  $\text{C}_{2-3}$  алкенила, причем алкильные и алкенильные группы необязательно замещены группой, выбранной из  $C_{1-4}$  алкила, амидо и  $C_{1-4}$  алкил сложного эфира или, где один из  $R^{26a}$  и  $R^{26b}$  представляет собой H, другой выбран из нитрила и  $C_{1-4}$  алкилового сложного эфира;

$R^6$  и  $R^9$  независимо выбраны из H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ , нитро,  $Me_3Sn$  и галогенида;

где R и R' независимо выбраны из необязательно замещенных  $C_{1-12}$  алкильной,  $C_{3-20}$  гетероциклической и  $C_{5-20}$  арильной групп;

$R^7$  выбран из H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NHRR'$ , нитро,  $Me_3Sn$  и галогена;

$R''$  представляет собой  $C_{3-12}$  алкильную группу, цепь которой может прерываться одним или более гетероатомами, например, O, S,  $NR^{N2}$  (где  $R^{N2}$  представляет собой H или  $C_{1-4}$  алкил), и/или ароматические кольца, например, бензол или пиридин;

Y и Y' выбраны из O, S или NH;

$R^{6'}$ ,  $R^{7'}$ ,  $R^{9'}$  выбраны из тех же групп, что и  $R^6$ ,  $R^7$  и  $R^9$ , соответственно;

### [Формула I]

$R^{L1'}$  представляет собой линкер для соединения с антителом (Ab);

$R^{11a}$  выбран из OH,  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил и  $SO_zM$ , где z равно 2 или 3, и M представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион;

$R^{20}$  и  $R^{21}$  либо вместе образуют двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, либо;

$R^{20}$  выбран из H и  $R^C$ , где  $R^C$  представляет собой блокирующую группу;

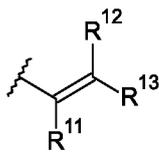
$R^{21}$  выбран из OH,  $OR^A$  и  $SO_zM$ ;

когда между C2 и C3 присутствует двойная связь,  $R^2$  выбран из группы, состоящей из:

(ia)  $C_{5-10}$  арильной группы, необязательно замещенной одним или более заместителями, выбранными из группы, включающей: галоген, нитро, циано, простой эфир, карбокси, сложный эфир,  $C_{1-7}$  алкил,  $C_{3-7}$  гетероцикл и бис-окси- $C_{1-3}$  алкилен;

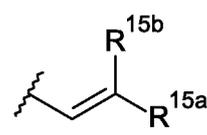
(ib)  $C_{1-5}$  насыщенного алифатического алкила;

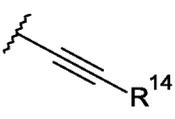
(ic)  $C_{3-6}$  насыщенного циклоалкила;

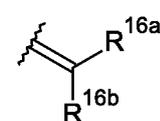


(id)  $\text{C}_{2-3}$  алкенила,  $C_{2-3}$  алкинила и циклопропила, где общее количество атомов углерода в  $R^2$  группе составляет не более чем 5;

где каждый из  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  и  $R^{13}$  независимо выбраны из H,  $C_{1-3}$  насыщенного алкила  $C_{2-3}$  алкенила,  $C_{2-3}$  алкинила и циклопропила, где общее количество атомов углерода в  $R^2$  группе составляет не более чем 5;

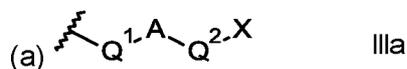
(ie)  , где один из R<sup>15a</sup> и R<sup>15b</sup> представляет собой H, а другой выбран из: фенила, причем фенил необязательно замещен группой, выбранной из галогена, метила, метокси; пиридила; и тиофенила; и

(if)  , где R<sup>14</sup> выбран из: H; C<sub>1-3</sub> насыщенного алкила C<sub>2-3</sub> алкенила; C<sub>2-3</sub> алкинила; циклопропила; фенила, который необязательно замещен группой, выбранной из галогена, метила, метокси; пиридила; и тиофенила; когда между C2 и C3 присутствует одинарная связь,

R<sup>2</sup> представляет собой  , где R<sup>16a</sup> и R<sup>16b</sup> независимо выбраны из H, F, C<sub>1-4</sub> насыщенного алкила C<sub>2-3</sub> алкенила, причем эти алкильные и алкенильные группы необязательно замещены группой, выбранной из C<sub>1-4</sub> алкиламида и C<sub>1-4</sub> алкил сложного эфира; или где один из R<sup>16a</sup> и R<sup>16b</sup> представляет собой H, другой выбран из нитрила и C<sub>1-4</sub> алкилового сложного эфира;

**[Формула II]**

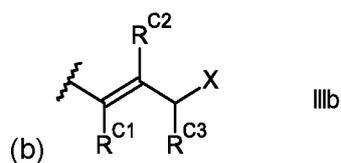
R<sup>22</sup> имеет формулу IIIa, формулу IIIb или формулу IIIc:



где A представляет собой C<sub>5-7</sub> арильную группу и одно из двух

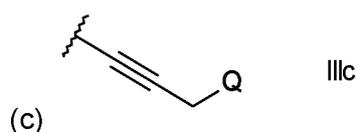
(i) Q<sup>1</sup> представляет собой одинарную связь, и Q<sup>2</sup> выбран из одинарной связи и -Z-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, где Z выбран из одинарной связи, O, S и NH, и n равно от 1 до 3; или

(ii) Q<sup>1</sup> представляет собой -CH=CH-, и Q<sup>2</sup> представляет собой одинарную связь;



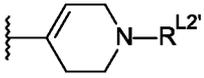
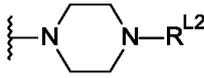
где;

R<sup>C1</sup>, R<sup>C2</sup> и R<sup>C3</sup> независимо выбраны из H и незамещенного C<sub>1-2</sub> алкила;



где Q выбран из O-R<sup>L2'</sup>, S-R<sup>L2'</sup> и NR<sup>N</sup>-R<sup>L2'</sup>, и R<sup>N</sup> выбран из H, метила и этила

X выбран из группы, включающей: O-R<sup>L2'</sup>, S-R<sup>L2'</sup>, CO<sub>2</sub>-R<sup>L2'</sup>, CO-R<sup>L2'</sup>, NH-C(=O)-R<sup>L2'</sup>, NHNH-

R<sup>L2'</sup>, CONHNH-R<sup>L2'</sup>, , , NR<sup>N</sup>R<sup>L2'</sup>, где R<sup>N</sup> выбран из группы, включающей H и C<sub>1-4</sub> алкил;

R<sup>L2'</sup> представляет собой линкер для соединения с антителом (Ab);

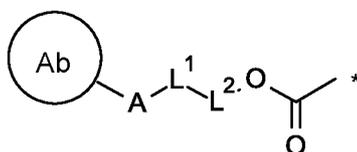
R<sup>10</sup> и R<sup>11</sup> либо вместе образуют двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, либо;

R<sup>10</sup> представляет собой H и R<sup>11</sup> выбран из OH, OR<sup>A</sup> и SO<sub>2</sub>M;

R<sup>30</sup> и R<sup>31</sup> либо вместе образуют двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, либо;

R<sup>30</sup> представляет собой H и R<sup>31</sup> выбран из OH, OR<sup>A</sup> и SO<sub>2</sub>M.

В некоторых вариантах осуществления L-R<sup>L1'</sup> или L-R<sup>L2'</sup> представляет собой группу:

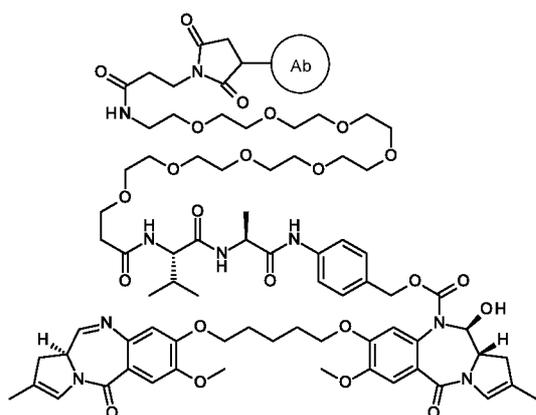


где звездочка указывает на точку присоединения к PBD, Ab представляет собой антитело, L<sup>1</sup> представляет собой расщепляемый линкер, A представляет собой соединяющую группу, соединяющую L<sup>1</sup> с антителом, L<sup>2</sup> представляет собой ковалентную связь или вместе с -OC(=O)- образует саморасщепляющийся линкер.

В некоторых из этих вариантов осуществления L<sup>1</sup> расщепляется ферментом.

Ранее было показано, что такие ADC полезны при лечении рака, экспрессирующего CD25 (см., например, WO2014/057119, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

Термин анти-CD25-ADC может включать любой вариант осуществления, описанный в WO 2014/057119. В частности, в предпочтительных вариантах осуществления ADC может иметь химическую структуру:



, где Ab представляет собой CD25 антитело, и

DAR составляет от 1 до 8.

Антитело может содержать домен VH, содержащий CDR1 VH с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO.3, CDR2 VH с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO.4 и CDR3 VH с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO. 5.

В некоторых аспектах компонент антитела анти-CD25-ADC представляет собой антитело, содержащее: домен VH, содержащий CDR1 VH с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO.3, CDR2 VH с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO.4, и CDR3 VH с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO.: 5. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит домен VH, имеющий последовательность согласно SEQ ID NO. 1.

Антитело может дополнительно содержать: домен VL, содержащий CDR1 VL с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO.6, VL CDR2 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO.7 и VL CDR3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит домен VL, имеющий последовательность согласно SEQ ID NO. 2.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит домен VH и домен VL, причем домены VH и VL имеют последовательности SEQ ID NO.1, в паре с SEQ ID NO. 2.

Домен(ы) VH и VL могут спариваться с образованием антигенсвязывающего сайта антитела, который связывает CD25.

В предпочтительных вариантах осуществления, антитело представляет собой интактное антитело, содержащее домен VH и домен VL, причем домены VH и VL имеют последовательности SEQ ID NO. 1 и SEQ ID NO. 2.

В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой полностью моноклональное антитело IgG1 человека, предпочтительно IgG1,к.

В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой антитело АВ12, описанное в WO 2004/045512 (Genmab A/S).

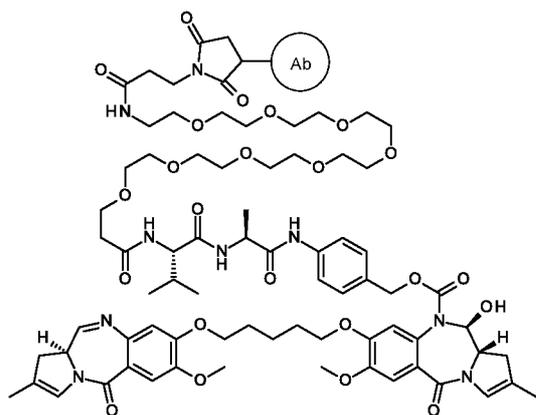
В одном аспекте антитело представляет собой описанное в данном документе антитело, которое было модифицировано (или дополнительно модифицировано), как описано ниже. В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой гуманизированное, деиммунизированное антитело или версию антитела с измененной поверхностью, описанного в настоящем документе.

Предпочтительным анти-CD25-ADC для использования с аспектами настоящего раскрытия является ADCX25, как описано в настоящем документе ниже. Вторым предпочтительным анти-CD25-ADC является ADCT-301.

### ADCx25

ADCx25 представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, состоящий из человеческого антитела к CD25 человека, присоединенного к активной нагрузке пирролобензодиазепином (PBD) через расщепляемый линкер. Механизм действия ADCX25 зависит от связывания CD25. CD25-специфическое антитело нацеливает конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC) на клетки, экспрессирующие CD25. После связывания ADC интернализуется и транспортируется в лизосому, где линкер, чувствительный к протеазе, расщепляется, и свободный димер PBD высвобождается внутри клетки-мишени. Высвобожденный димер PBD ингибирует транскрипцию избирательным образом за счет прямого ингибирования РНК-полимеразы или ингибирования взаимодействия связанных факторов транскрипции. Димер PBD образует ковалентные поперечные связи, которые не искажают двойную спираль ДНК и не распознаются факторами эксцизионной репарации нуклеотидов, обеспечивая более длительный эффективный период (Hartley 2011).

Он имеет химическую структуру:



Ab представляет собой антитело AB12 (полностью моноклональное антитело IgG1 человека, K, с VH и VL последовательностями SEQ ID NO. 1 и SEQ ID NO. 2, соответственно, также известное как HuMax-TAC). Оно синтезируется, как описано в WO 2014/057119 (Conj AB12-E), и обычно имеет DAR (англ.: Drug to Antibody Ratio) (отношение лекарственного средства к антителу) 2,0+/-0,3.

### Связывание CD25

Термин «первый целевой белок» (ПЦБ), в контексте настоящего документа, предпочтительно представляет собой CD25.

Термин «связывает CD25», в контексте настоящего документа, означает, что антитело связывает CD25 с более высокой аффинностью, чем неспецифический партнер, такой как бычий сывороточный альбумин (BSA, номер доступа в Genbank CAA76847, номер версии CAA76847.1 GI: 3336842, дата обновления записи: 7 января 2011 г., 14:30). В некоторых вариантах осуществления, антитело связывает CD25 с константой ассоциации ( $K_a$ ) по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000,  $10^4$ ,  $10^5$  или  $10^6$  раз выше, чем константа ассоциации антитела для BSA при измерении в физиологических условиях. Антитела согласно настоящему описанию могут связывать CD25 с высокой аффинностью. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело может связывать CD25 с  $K_D$  равной или менее около  $10^{-6}$  М, например, равной или менее около  $1 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-13}$  или  $10^{-14}$ .

В некоторых вариантах осуществления полипептид CD25 соответствует номеру доступа в Genbank. NP\_000408, версия № NP\_000408.1 GI:4557667, дата обновления записи: 9 сентября 2012 г., 16:59. В одном варианте осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид CD25, соответствует номеру доступа Genbank. NM\_000417, версия № NM\_000417.2 GI: 269973860, дата обновления записи: 9 сентября 2012 г., 16:59.

В некоторых вариантах осуществления, полипептид CD25 соответствует номеру доступа Uniprot/Swiss-Prot P01589.

### **Гемцитабин**

Комбинация агентов с различными механизмами действия представляет собой установленный терапевтический принцип борьбы с раком. Это может быть способ увеличения противоопухолевой активности, когда проявляется синергетический эффект и/или когда наблюдается снижение токсичности. Конъюгаты антитело-лекарственное средство, включая конъюгаты с активной нагрузкой РВD, могут быть особенно подходящими в качестве партнеров комбинации, поскольку они более целенаправлены по сравнению с традиционной химиотерапией. Поскольку димеры РВD сшивают ДНК ковалентным образом, их сочетание с другими агентами, которые мешают синтезу ДНК посредством другого механизма, вероятно, принесет пользу. Примером комбинации является Гемцитабин.

Гемцитабин представляет собой антиметаболит широкого спектра действия и аналог дезоксицитидина с противоопухолевой активностью. При введении гемцитабин превращается дезоксицитидин киназой в активные метаболиты дифтордезоксицитидиндифосфат (dFdCDP) и дифтордезоксицитидинтрифосфат (dFdCTP). dFdCTP конкурирует с дезоксицитидинтрифосфатом (dCTP) и встраивается в ДНК. Это блокирует ДНК-полимеразу, что приводит к замаскированной терминации во время репликации ДНК. С другой стороны, dFdCDP ингибирует рибонуклеотидредуктазу, тем самым уменьшая пул дезоксинуклеотидов, доступных для синтеза ДНК. Снижение внутриклеточной концентрации dCTP усиливает встраивание dFdCTP в ДНК.

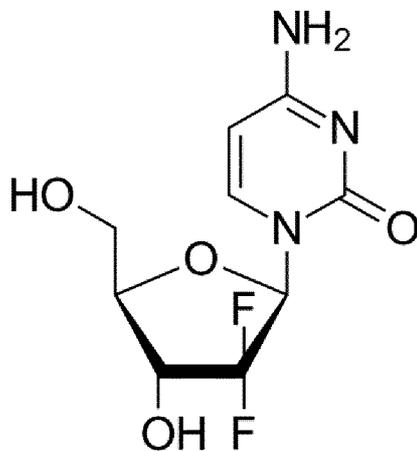
Гемцитабин продемонстрировал активность в отношении различных солидных опухолей и был одобрен для лечения немелкоклеточного рака легких, поджелудочной железы, мочевого пузыря и молочной железы. Последние данные показали, что гемцитабин также активен против рака яичников. Сообщается, что гемцитабин имеет хороший профиль токсичности, при этом миелосупрессия является наиболее частым побочным эффектом, в то время как негематологические явления встречаются относительно редко (Toschi et al. 2005, Future Oncology, Vol.1(1), pp.7-17).

i. номер CAS → 95058-81-4  
(см. <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii.ссылка IUPHAR/BPS → 4793

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

- iii. уникальный идентификатор ингредиента (UNII) → B76N6SBZ8R  
(см. <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



Формула I, гемцитабин: 4-Амино-1- (2-дезоксидезокси-2,2-дифтор-β-D-эритропентофуранозил)пиримидин-2(1H)-он

### 5-фторурацил

Комбинация агентов с различными механизмами действия представляет собой установленный терапевтический принцип борьбы с раком. Это может быть способ увеличения противоопухолевой активности, когда проявляется синергетический эффект и/или когда наблюдается снижение токсичности. Конъюгаты антитело-лекарственное средство, включая конъюгаты с активной нагрузкой PBD, могут быть особенно подходящими в качестве партнеров комбинации, поскольку они более целенаправлены по сравнению с традиционной химиотерапией. Поскольку димеры PBD сшивают ДНК ковалентным образом, их сочетание с другими агентами, которые мешают синтезу ДНК посредством другого механизма, вероятно, принесет пользу. Другой пример комбинации представляет собой 5-фторурацил

5-фторурацил является антиметаболитным фторпиримидиновым аналогом пиримидинового нуклеозида с противоопухолевой активностью. 5-фторурацил и его метаболиты обладают рядом различных механизмов действия. *In vivo* 5-фторурацил превращается в активный метаболит 5-фтороксиуридинмонофосфат (F-UMP); заменяя урацил, F-UMP встраивается в РНК и подавляет процессинг РНК, тем самым подавляя рост клеток. Другой активный метаболит, 5-фтор-2'-дезоксидеоксиуридин-5'-О-монофосфат (F-dUMP), ингибирует тимидилатсинтазу, что приводит к истощению тимидинтрифосфата

(ТТФ), одного из четырех нуклеотидтрифосфатов, используемых в синтезе ДНК *in vivo*. Другие метаболиты 5-фторурацила встраиваются как в РНК, так и в ДНК; встраивание в РНК приводит к значительным эффектам как на процессинг, так и на функции РНК.

5-фторурацил проявил активность в различных солидных опухолях и был одобрен для лечения рака анального канала, молочной железы, колоректального рака, пищевода, желудка, поджелудочной железы и кожи (особенно рака головы и шеи). Его также назначают местно при актиническом кератозе, раке кожи и болезни Боуэна, а также в виде глазных капель для лечения плоскоклеточной неоплазии поверхности глаза. Другие применения включают глазные инъекции в ранее созданный пузырек для трабекулэктомии, чтобы препятствовать заживлению и вызвать рубцевание ткани, тем самым обеспечивая адекватный поток водянистой влаги для снижения внутриглазного давления.

i. номер CAS → 51-21-8

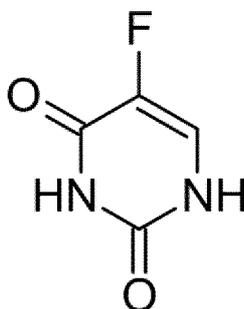
(см. <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

ii. ссылка IUPHAR/BPS → 4789

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

iii. уникальный идентификатор ингредиента (UNII) → U3P01618RT

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



Формула II, 5-фторурацил:

### **Выгодные свойства описываемой комбинации**

Как и ADC, так и гемцитабин, или 5-фторурацил при использовании в качестве единственного агента по отдельности продемонстрировали клиническую полезность, например, при лечении рака. Однако, как описано в данном документе, ожидается, что комбинация ADC и гемцитабина, или 5-фторурацила обеспечит одно или более из следующих преимуществ по сравнению с лечением только с помощью ADC, гемцитабина или 5-фторурацила:

- 1) эффективное лечение более широкого диапазона злокачественных новообразований;
- 2) эффективное лечение устойчивых или рефрактерных форм расстройств, таких как рак, и индивидуумов с такими расстройствами, как рак, у которых возник рецидив после периода ремиссии;
- 3) повышенная частота ответа на лечение; и/или
- 4) Повышенная продолжительность наблюдаемого эффекта лечения.

Эффективное лечение более широкого диапазона злокачественных новообразований в контексте настоящего описания означает, что после лечения комбинацией наблюдается полный ответ с более широким диапазоном распознаваемых типов злокачественных новообразований. Таким образом, полный ответ наблюдается при типах злокачественных новообразований, о которых ранее не сообщалось, при полном ответе ни на ADC, ни на гемцитабин, ни на 5-фторурацил.

Эффективное лечение резистентных, рефрактерных или рецидивирующих форм в контексте настоящего описания означает, что после лечения комбинацией наблюдается полный ответ у индивидуумов, которые либо частично, либо полностью резистентны, либо рефрактерны к лечению либо ADC, либо гемцитабином, либо только 5-фторурацилом (например, индивидуумы, у которых нет ответа или наблюдается только частичный ответ после лечения одним агентом, или индивидуумы с рецидивом заболевания). В некоторых вариантах осуществления, полный ответ после лечения комбинацией ADC/гемцитабин или 5-фторурацил наблюдается по меньшей мере у 10% индивидуумов, которые либо частично, либо полностью резистентны, либо не поддаются лечению только с помощью ADC, гемцитабина или 5-фторурацила. В некоторых вариантах осуществления, полный ответ после лечения с помощью комбинации ADC/гемцитабин или 5-фторурацил наблюдается по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70% , по меньшей мере, 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% индивидуумов, которые частично

или полностью резистентны или невосприимчивы к лечению с помощью либо ADC, либо гемцитабина, либо только 5-фторурацила.

Повышенная частота ответа на лечение в контексте настоящего описания означает, что после лечения с помощью комбинации полный ответ наблюдается у большей части индивидуумов, чем наблюдается после лечения с помощью либо ADC, либо гемцитабина, либо только 5-фторурацила. В некоторых вариантах осуществления, полный ответ после лечения с помощью комбинации ADC/гемцитабин или 5-фторурацил наблюдается по меньшей мере у 10% пациентов, получавших лечение. В некоторых вариантах осуществления, полный ответ после лечения с помощью комбинации ADC/гемцитабин или 5-фторурацил наблюдается у по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% индивидуумов, прошедших лечение.

Повышенная продолжительность наблюдаемого эффекта лечения в контексте настоящего описания означает, что средняя продолжительность полного ответа у индивидуумов, получавших комбинацию, сохраняется на протяжении более длительного периода времени, чем у индивидуумов, которые достигли полного ответа после лечения с помощью либо ADC, либо гемцитабина, либо только 5-фторурацила. В некоторых вариантах осуществления, средняя продолжительность полного ответа после лечения с помощью комбинации ADC/гемцитабин или 5-фторурацил составляет по меньшей мере 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления, средняя продолжительность полного ответа после лечения с помощью комбинации ADC/гемцитабин или 5-фторурацил составляет по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяца, по меньшей мере 3 года, по меньшей мере 4 года, по меньшей мере 5 лет, по меньшей мере 6 лет, по меньшей мере 7 лет, по меньшей мере 8 лет, по меньшей мере 9 лет, по меньшей мере 10 лет, по меньшей мере 15 лет или по меньшей мере 20 лет.

«Полный ответ» используется в настоящем документе для обозначения отсутствия каких-либо клинических признаков заболевания у индивидуума. Доказательства могут быть оценены с использованием соответствующего способа в данной области техники, например, компьютерной томографии или ПЭТ-сканирования или биопсии, где это необходимо. Количество доз, необходимых для достижения полного ответа, может составлять одну, две, три, четыре, пять, десять или больше. В некоторых вариантах осуществления, индивидуумы достигают полного ответа не более чем через год после

введения первой дозы, например, не более 6 месяцев, не более 3 месяцев, не более месяца, не более двух недель или не более через неделю после введения первой дозы.

### **Расстройства, подвергаемые лечению**

Комбинированные способы лечения, описанные в настоящем документе, включают те, которые полезны для противораковой активности. В частности, в определенных аспектах терапии включают антитело, конъюгированное, т.е., ковалентно присоединенное линкером, к фрагменту лекарственного средства PBD, то есть токсину. Когда лекарственное средство не конъюгировано с антителом, лекарственное средство PBD оказывает цитотоксическое действие. Таким образом, биологическая активность фрагмента лекарственного средства PBD модулируется конъюгацией с антителом. Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) по настоящему изобретению избирательно доставляют эффективную дозу цитотоксического агента в опухолевую ткань, за счет чего может быть достигнута более высокая селективность, т.е., более низкая эффективная доза.

Таким образом, в одном аспекте в настоящем изобретении предложены комбинированные терапии, включающие введение ADC, который связывает первый целевой белок, для использования в терапии, причем способ включает выбор субъекта на основе экспрессии целевого белка.

В одном аспекте в настоящем изобретении предложена комбинированная терапия с этикеткой, которая указывает, что терапия подходит для использования с субъектом, который определен как подходящий для такого использования. На этикетке может быть указано, что терапия подходит для использования у субъекта, имеющего экспрессию первого целевого белка, такую как сверхэкспрессия первого целевого белка. На этикетке может быть указано, что у субъекта конкретный тип рака.

Первый целевой белок предпочтительно представляет собой CD25. Раком может быть лимфома, например ОМЛ. На этикетке может быть указано, что у субъекта лимфома CD25+.

В дополнительном аспекте также предложена комбинированная терапия, как описано в данном документе, для использования при лечении пролиферативного заболевания. Другой аспект настоящего раскрытия относится к использованию конъюгированного соединения при производстве лекарственного средства для лечения пролиферативного заболевания.

Специалист в данной области техники легко сможет определить, лечит ли кандидатная комбинированная терапия пролиферативное состояние для любого конкретного типа клеток. Например, ниже описаны анализы, которые удобно использовать для оценки активности конкретного соединения.

Комбинированные терапии, описанные в настоящем документе, могут использоваться для лечения пролиферативного заболевания. Термин «пролиферативное заболевание» относится к нежелательной или неконтролируемой клеточной пролиферации избыточных или аномальных клеток, которая является нежелательной, такой как неопластический или гиперпластический рост, как *in vitro*, так и *in vivo*.

Примеры пролиферативных состояний включают, но не ограничиваются ими, доброкачественную, предзлокачественную и злокачественную клеточную пролиферацию, включая, но не ограничиваясь ими, новообразования и опухоли (например, гистiocитому, глиому, астроциому, остеому), рак (например, рак легких, мелкоклеточный рак легкого, рак желудочно-кишечного тракта, рак кишечника, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак яичников, рак предстательной железы, рак яичек, рак печени, рак почек, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы, рак головного мозга, саркома, остеосаркома, саркома Капоши, меланома), лимфомы, лейкозы, псориаз, заболевания костей, фибропролиферативные расстройства (например, соединительной ткани) и атеросклероз. Представляющие интерес виды рака включают, но не ограничиваются ими, лейкозы и рак яичников.

Можно лечить любой тип клеток, включая, помимо прочего, легких, желудочно-кишечного тракта (включая, например, кишечник, толстую кишку), молочных желез, яичников, предстательной железы, печени (гепатоциты), почек (почечные), мочевого пузыря, поджелудочной железы, головного мозга и кожи.

Пролиферативные расстройства, представляющие особый интерес, включают, но не ограничиваются ими, лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому, (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ) и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по

филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ) [Fielding A., Haematologica. 2010 Jan; 95(1): 8–12].

Пролиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

Пролиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток, необязательно, где CD25-отрицательные неопластические клетки ассоциированы с CD25-положительными неопухолевыми клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки.

Целевое новообразование или неопластические клетки могут быть всей или частью солидной опухоли.

Следует понимать, что «солидная опухоль» в настоящем документе включает солидные гематологические злокачественные опухоли, такие как лимфомы (лимфома Ходжкина или неходжкинская лимфома), которые более подробно обсуждаются в данном документе.

Солидные опухоли могут представлять собой новообразования, включая негематологические злокачественные опухоли, содержащие или состоящие из CD25-положительных неопластических клеток. Солидные опухоли могут быть новообразованиями, включая негематологические злокачественные опухоли, инфильтрованные CD25-положительными клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки; в таких солидных опухолях может отсутствовать экспрессия CD25 (т.е., они могут состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток).

Например, солидная опухоль может быть опухолью с высоким уровнем инфильтрирующих Т-клеток, таких как инфильтрирующие регуляторные Т-клетки (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 2017 Jan;27(1):109-118). Соответственно, солидная опухоль может представлять собой рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному и рак головы и шеи.

Предполагается, что варианты комбинированной терапии по настоящему изобретению могут использоваться для лечения различных заболеваний или расстройств, например,

характеризуемых сверхэкспрессией опухолевого антигена. Типичные состояния или гиперпролиферативные расстройства включают доброкачественные или злокачественные опухоли; лейкоз, гематологические и лимфоидные злокачественные образования. Другие включают нейрональные, глиальные, астроцитарные, гипоталамические, железистые, макрофагальные, эпителиальные, стромальные, бластоцельные, воспалительные, ангиогенные и иммунологические, включая аутоиммунные расстройства и болезнь трансплантат против хозяина (БТПХ).

Обычно заболевание или расстройство, подлежащее лечению, представляет собой гиперпролиферативное заболевание, такое как рак. Примеры рака, подлежащего лечению согласно настоящего документа, включают, но не ограничиваются ими, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз, или лимфоидные злокачественные образования. Более конкретные примеры таких видов рака включают плоскоклеточный рак (например, плоскоклеточный эпителиальный рак), рак легких, включая мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого и плоскоклеточный рак легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудка, включая рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак толстой кишки, рак эндометрия или матки, рак слюнной железы, рак почки, рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, гепатокарциному, карциному анального канала, карциному полового члена, а также рак головы и шеи.

Аутоиммунные заболевания, при лечении которых можно использовать комбинированные терапии, включают ревматологические расстройства (такие как, например, ревматоидный артрит, синдром Шегрена, склеродермия, волчанка, такая как СКВ и волчаночный нефрит, полимиозит/дерматомиозит, криоглобулинемия, синдром антифосфолипидных антител и псориатический артрит), остеоартрит, аутоиммунные заболевания желудочно-кишечного тракта и печени (такие как, например, воспалительные заболевания кишечника (например, язвенный колит и болезнь Крона), аутоиммунный гастрит и пернициозная анемия, аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит и глютеновая болезнь), васкулиты (такие как, например, АНЦА-ассоциированный васкулит, включая васкулит Черга — Страусс, гранулематоз Вегенера и полиартериит), аутоиммунные неврологические расстройства (такие как, например, рассеянный склероз, опсо-миоклональный синдром, миастения гравис, нейромиелит зрительного нерва, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и аутоиммунные полиневропатии), нарушение функции почек (такие как, например, гломерулонефрит,

синдром Гудпасчера и болезнь Бергера), аутоиммунные дерматологические заболевания (такие как, например, псориаз, уртикария, крапивница, вульгарный пемфигус, буллезный пемфигоид и кожная красная волчанка), гематологические расстройства (такие как, например, тромбоцитопеническая пурпура, тромботическая тромбоцитопеническая пурпура, посттрансфузионная пурпура и аутоиммунная гемолитическая анемия), атеросклероз, увеит, аутоиммунные заболевания слуха (такие как, например, болезнь внутреннего уха и потеря слуха), синдром Бехчета, синдром Рейно, трансплантация органов, болезнь трансплантат против хозяина (БТПХ) и аутоиммунные эндокринные расстройства (такие как, например, связанные с диабетом аутоиммунные заболевания, такие как инсулинозависимый сахарный диабет (ИЗСД), болезнь Аддисона и аутоиммунное заболевание щитовидной железы (например, болезнь Грейвса и тиреоидит)). Более предпочтительные такие заболевания включают, например, ревматоидный артрит, язвенный колит, АНЦА-ассоциированный васкулит, волчанку, рассеянный склероз, синдром Шегрена, болезнь Грейвса, ИЗСД, пернициозную анемию, тиреоидит и гломерулонефрит.

В некоторых аспектах субъект имеет пролиферативное расстройство, выбранное из (классических) лимфом Ходжкина, со смешанным типом клеточности (клетки Ходжкина/Рид — Штернберга: CD25 +/-) или неходжкинской лимфомы, включая В-клеточный хронический лимфолейкоз, диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДККЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛККЗ) и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ) [Fielding A., Haematologica. 2010 Jan; 95(1): 8–12], мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых или анапластическая крупноклеточную лимфому.

В некоторых аспектах субъект страдает пролиферативным заболеванием, характеризующимся наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

Пролиферативное заболевание может характеризоваться наличием новообразования, состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток, необязательно, где CD25-

отрицательные неопластические клетки ассоциированы с CD25-положительными неопухолевыми клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки.

Целевое новообразование или неопластические клетки могут быть всей или частью солидной опухоли.

Солидные опухоли могут представлять собой новообразования, включая негематологические злокачественные опухоли, содержащие или состоящие из CD25-положительных неопластических клеток. Солидные опухоли могут быть новообразованиями, включая негематологические злокачественные опухоли, инфильтрованные CD25-положительными клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки; в таких солидных опухолях может отсутствовать экспрессия CD25 (т.е., они могут состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток).

Например, солидная опухоль может быть опухолью с высоким уровнем инфильтрирующих Т-клеток, таких как инфильтрирующие регуляторные Т-клетки (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., *Targ Oncol* (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, *Immunity* 46, 1–10; Tanaka, A., et al., *Cell Res.* 2017 Jan;27(1):109-118). Соответственно, солидная опухоль может представлять собой рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному и рак головы и шеи.

Классическая лимфома Ходжкина включает подтипы узловой склерозирующей, с преобладанием лимфоцитов, истощенной лимфоцитами и смешанной клеточностью. Подтип лимфомы Ходжкина не может быть определен. В определенных аспектах пациенты, прошедшие тестирование в соответствии с описанными в настоящем документе способами, имеют лимфому Ходжкина подтипа узловой склерозирующей и смешанной клеточности.

В некоторых аспектах у субъекта имеется диффузная В-крупноклеточная лимфома или периферическая Т-клеточная лимфома, включая подтипы анапластической крупноклеточной лимфомы и ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы.

### **Отбор пациентов**

В некоторых аспектах индивидуумы выбираются как подходящие для лечения с помощью комбинированного лечения перед назначением лечения.

В данном контексте индивидуумы, которых считают подходящими для лечения, представляют собой индивидуумы, которые, как ожидается, получают пользу от лечения или реагируют на него. Индивидуумы могут иметь или подозреваться в наличии рака, или быть в группе риска. Индивидуумы могли получить диагноз рак. В частности, индивидуумы могут иметь или подозреваться в наличии лимфомы или подвергаться риску заболевания. В некоторых случаях индивидуумы могут иметь или подозреваться в наличии, или иметь риск развития солидного рака, который имеет ассоциированные с опухолью неопухолевые клетки, которые экспрессируют первый целевой белок, например, инфильтрирующие Т-клетки, которые экспрессируют первый целевой белок.

В некоторых аспектах индивидуумов отбирают на основе количества или паттерна экспрессии первого целевого белка. В некоторых аспектах отбор основан на экспрессии первого целевого белка на поверхности клетки. Таким образом, в некоторых случаях индивидуумы выбираются на основании того, что они имеют или подозреваются в наличии, подвержены риску развития рака или получили диагноз пролиферативное заболевание, характеризующееся наличием новообразования, содержащего клетки с низким уровнем поверхностной экспрессии первого целевого белка (такого как CD25). Новообразование может состоять из клеток, имеющих низкий уровень поверхностной экспрессии первого целевого белка (такого как CD25). В некоторых случаях низкие уровни поверхностной экспрессии означают, что среднее количество антител к ПЦБ, связанных с неопластической клеткой, составляет менее 20000, например, менее 10000, менее 5000, менее 2000, менее 1000, менее 500, менее 400, менее 300, менее 200 или менее 100. В некоторых случаях среднее количество связанных антител на клетку измеряется с использованием анализа, описанного в Примере 9.

В некоторых аспектах индивидуумов выбирают на основании наличия у них новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки. Новообразование может состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток, необязательно при этом CD25-отрицательные неопластические клетки ассоциированы с CD25-положительными неопухолевыми клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки. Новообразование или неопластические клетки могут быть всей или частью солидной опухоли. Сольдная опухоль может быть частично или полностью CD25-отрицательной и может быть инфильтрирована CD25-положительными клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки.

В определенных аспектах мишенью является второй целевой белок. В некоторых аспектах отбор основан на экспрессии второго целевого белка на поверхности клетки.

В некоторых аспектах отбор основан на уровнях как первого целевого белка, так и второго целевого белка на поверхности клетки.

В некоторых случаях определяется экспрессия мишени в конкретной представляющей интерес ткани. Например, в образце лимфоидной ткани или опухолевой ткани. В некоторых случаях определяется системная экспрессия мишени. Например, в образце циркулирующей жидкости, такой как кровь, плазма, сыворотка или лимфа.

В некоторых аспектах индивидуум выбирается как подходящий для лечения из-за наличия целевой экспрессии в образце. В таких случаях индивидуумы без целевой экспрессии могут считаться непригодными для лечения.

В других аспектах уровень целевой экспрессии используется для выбора индивидуума, подходящего для лечения. Когда уровень экспрессии мишени выше порогового уровня, индивидуум считается подходящим для лечения.

В некоторых аспектах присутствие первого целевого белка и/или второго целевого белка в клетках в образце указывает на то, что индивидуум подходит для лечения с помощью комбинации, содержащей ADC и гемцитабин, или 5-фторурацил. В других аспектах количество первого целевого белка и/или экспрессия второго целевого белка должно быть выше порогового уровня, чтобы указать, что индивидуум подходит для лечения. В некоторых аспектах наблюдение того, что локализация первого целевого белка и/или второго целевого белка изменена в образце по сравнению с контролем, указывает на то, что индивидуум подходит для лечения.

В некоторых аспектах индивидуум указан как подходящий для лечения, если клетки, полученные из лимфатических узлов или дополнительных узловых участков, реагируют с антителами против первого целевого белка и/или второго целевого белка, как определено с помощью ИГХ.

В некоторых аспектах считается, что пациент подходит для лечения, если по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или более всех клеток в образце экспрессируют первый целевой белок. В некоторых раскрытых в настоящем документе аспектах пациент считается подходящим для лечения, если по меньшей мере 10% клеток в образце экспрессируют первый целевой белок.

В некоторых аспектах считается, что пациент подходит для лечения, если по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или более всех клеток в образце экспрессируют второй целевой белок. В некоторых раскрытых в настоящем документе аспектах пациент считается подходящим для лечения, если по меньшей мере 10% клеток в образце экспрессируют второй целевой белок.

Первый целевой белок предпочтительно представляет собой CD25.

### Образцы

Образец может содержать или может быть получен из: некоторого количества крови; количества сыворотки, полученной из крови индивидуума, которое может включать жидкую часть крови, полученную после удаления фибринового сгустка и клеток крови; некоторого количества поджелудочного сока; образца ткани или биопсии; или клетки, выделенной от указанного индивидуума.

Образец может быть взят из любой ткани или физиологической жидкости. В определенных аспектах образец может включать или может быть получен из образца ткани, биопсии, резекции или выделенных клеток от указанного индивидуума.

В определенных аспектах образец представляет собой образец ткани. Образец может быть образцом опухолевой ткани, такой как ткань злокачественной опухоли. Образец мог быть получен при биопсии опухоли. В некоторых аспектах образец представляет собой образец лимфоидной ткани, такой как образец лимфоидного поражения или биопсия лимфатического узла. В некоторых случаях образец представляет собой биопсию кожи.

В некоторых аспектах образец берут из физиологической жидкости, более предпочтительно из жидкости, циркулирующей по организму. Соответственно, образец может быть образцом крови или лимфы. В некоторых случаях образец представляет собой образец мочи или образец слюны.

В некоторых случаях образец представляет собой образец крови или образец, полученный из крови. Образец, полученный из крови может быть выбранной фракцией крови человека, например, выбранная фракция, содержащая клетки, или фракция плазмы или сыворотки.

Выбранная фракция, содержащая клетки, может содержать представляющие интерес типы клеток, которые могут включать лейкоциты (WBC - white blood cells), в частности, мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) и/или гранулоциты, и/или эритроциты (RBC - red blood cells). Соответственно, способы согласно настоящему изобретению могут включать обнаружение первого целевого полипептида или нуклеиновой кислоты в крови, в лейкоцитах, мононуклеарных клетках периферической крови, гранулоцитах и/или красных кровяных тельцах.

Образец может быть свежим или архивным. Например, архивная ткань может быть получена при первом диагнозе пациента или биопсии при рецидиве. В некоторых аспектах образец представляет собой свежевзятую биопсию.

Первый целевой полипептид предпочтительно представляет собой CD25.

### Статус индивидуума

Индивидуум может быть животным, млекопитающим, плацентарным млекопитающим, сумчатым животным (например, кенгуру, вомбат), однопроходным животным (например, утконосом), грызуном (например, морской свинкой, хомяком, крысой, мышью), представителем подсемейства мышиных (например, мышь), зайцеобразным (например, кролик), представителем птичьих (например, птица), представителем семейства псовых (например, собака), представителем семейства кошачьих (например, кошка), представителем семейства лошадиных (например, лошадь), представителем подотряда свинообразных (например, свинья), представителем овечьих (например, овца), крупным рогатым скотом (например, корова), приматом, представителем обезьянообразных (например, мартышка или обезьяна), мартышкообразных обезьян (например, мартышка, бабуин), представителем человекообразных обезьян (например, горилла, шимпанзе, орангутанг, гиббон) или человеком.

Кроме того, индивидуум может иметь любую форму своего развития, например, плод. В одном предпочтительном варианте осуществления индивидуумом является человек. Термины «субъект», «пациент» и «индивидуум» используются в настоящем документе взаимозаменяемо.

В некоторых аспектах, раскрытых в настоящем документе, индивидуум имеет или подозревается в наличии или был идентифицирован как подверженный риску иметь рак. В некоторых раскрытых в настоящем документе аспектах индивидуум уже получил диагноз рак. Пациенту мог быть поставлен диагноз (классическая) лимфома Ходжкина (включая узловую склерозирующую, с преобладанием лимфоцитов, лимфоцитов или

смешанный тип клеточности, или если тип не указан), диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДБКЛ) или периферическая Т-клеточная лимфома (PTCL - peripheral T cell lymphoma) (включая подтипы ALCL: анапластическая крупноклеточная лимфома или AITL: ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома). В некоторых случаях пациенту ставили диагноз узловая склерозирующая или смешанная клеточная классическая лимфома Ходжкина, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома или ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома.

В некоторых случаях индивидуум имеет или у него подозревают пролиферативное заболевание, характеризующееся наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки. Новообразование может состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток, необязательно при этом CD25-отрицательные неопластические клетки ассоциированы с CD25-положительными неопухолевыми клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки. Новообразование или неопластические клетки могут быть всей или частью солидной опухоли. Сплошная опухоль может представлять собой новообразование, включая негематологический рак, содержащее или состоящее из CD25-положительных неопластических клеток. Сплошная опухоль может представлять собой новообразование, включая негематологический рак, инфильтрированное CD25-положительными клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки; в таких сплошных опухолях может отсутствовать экспрессия CD25 (т.е. они могут состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток).

В некоторых случаях у индивидуума имеется или есть подозрение на наличие сплошной опухоли с высоким уровнем инфильтрирующих Т-клеток, таких как инфильтрирующие регуляторные Т-клетки (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., *Targ Oncol* (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, *Immunity* 46, 1–10; Tanaka, A., et al., *Cell Res.* 2017 Jan;27(1):109-118). Некоторые или все неопластические клетки в опухоли могут быть CD25-отрицательными. Сплошная опухоль может представлять собой рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному и рак головы и шеи.

В некоторых случаях индивидуум получил диагноз (классическая) лимфома Ходжкина (смешанный тип клеточности) или неходжкинская лимфома (включая В-клеточный хронический лимфатический лейкоз, диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны

(БЛКМЗ) и лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ) [Fielding A., Haematologica. 2010 Jan; 95(1): 8–12], мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома, Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых и анапластическая крупноклеточная лимфома.

В некоторых случаях индивидуум получил диагноз Т-клеточная лимфома кожи, грибовидный микоз, синдром Сезари, системный мастоцитоз, В-клеточная лимфома, негематопозитические опухоли, периферическая Т-клеточная лимфома и гистиоцитарная пролиферация.

В некоторых случаях индивидуумы имеют или подозреваются в наличии или получили диагноз пролиферативное заболевание, характеризующееся наличием новообразования, содержащего клетки с низким уровнем поверхностной экспрессии первого целевого белка (такого как CD25). Новообразование может состоять из клеток, имеющих низкий уровень поверхностной экспрессии первого целевого белка (такого как CD25). В некоторых случаях низкие уровни поверхностной экспрессии означают, что среднее количество антител к ПЦБ, связанных с неопластической клеткой, составляет менее 20000, например, менее 10000, менее 5000, менее 2000, менее 1000, менее 500, менее 400, менее 300, менее 200 или менее 100.

В некоторых случаях индивидуум получил диагноз пролиферативное заболевание, характеризующееся наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки. Новообразование может состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток, необязательно при этом CD25-отрицательные неопластические клетки ассоциированы с CD25-положительными неопухолевыми клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки. Новообразование или неопластические клетки могут быть всей или частью солидной опухоли. Сплошная опухоль может представлять собой новообразование, включая негематологический рак, содержащее или состоящее из CD25-положительных неопластических клеток. Сплошная опухоль может представлять собой новообразование, включая негематологический рак, инфильтрированное CD25-положительными клетками, такими как CD25-положительные Т-клетки; в таких сплошных опухолях может отсутствовать экспрессия CD25 (т.е. они могут состоять из CD25-отрицательных неопластических клеток).

В некоторых случаях индивидуум имеет диагноз солидная опухоль с высоким уровнем инфильтрирующих Т-клеток, таких как инфильтрирующие регуляторные Т-клетки (Treg; Ménétrier-Caux, C., et al., Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10; Tanaka, A., et al., Cell Res. 2017 Jan;27(1):109-118). Некоторые или все неопластические клетки в опухоли могут быть CD25-отрицательными. Солидная опухоль может представлять собой рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному и рак головы и шеи.

В некоторых случаях индивидуум имеет диагноз солидный рак, содержащий CD25+ экспрессирующие инфильтрирующие Т-клетки.

Индивидуум может проходить или проходил терапевтическое лечение этого рака. Субъект мог или не мог получать ранее ADCX25 или ADCT-301. В некоторых случаях рак представляет собой лимфому, включая лимфому Ходжкина или неходжкинскую лимфому.

### Контроли

В некоторых аспектах целевая экспрессия у индивидуума сравнивается с целевой экспрессией в контроле. Контроли полезны для подтверждения достоверности окрашивания и выявления исследуемых артефактов.

В некоторых случаях контроль может быть эталонным образцом или эталонным набором данных. Эталоном может быть образец, который ранее был получен от индивидуума с известной степенью пригодности. Эталоном может быть набор данных, полученный в результате анализа эталонного образца.

Контроли могут быть положительными контролями, в которых, как известно, целевая молекула присутствует или экспрессируется на высоком уровне, или отрицательными контролями, в которых известно, что целевая молекула отсутствует или экспрессируется на низком уровне.

Контроли могут представлять собой образцы тканей, взятых у людей, которые, как известно, получают пользу от лечения. Ткань может быть того же типа, что и исследуемый образец. Например, образец опухолевой ткани от индивидуума можно сравнить с контрольным образцом опухолевой ткани от индивидуума, о котором известно,

что он подходит для лечения, например, от индивидуума, который ранее отвечал на лечение.

В некоторых случаях контроль может быть образцом, полученным от того же индивидуума, что и тестовый образец, но из ткани, которая, как известно, является здоровой. Таким образом, образец злокачественной ткани от индивидуума можно сравнить с образцом незлокачественной ткани.

В некоторых случаях контролем является образец клеточной культуры.

В некоторых случаях тестируемый образец анализируется перед инкубацией с антителом, чтобы определить уровень окрашивания фона, свойственного этому образцу.

В некоторых случаях используется изотипический контроль. В изотипических контролях используются антитела того же класса, что и специфические целевые антитела, но они не являются иммунологически реактивными с образцом. Такие контроли полезны для различения неспецифических взаимодействий целевого специфического антитела.

Способы могут включать интерпретацию морфологии и иммуногистохимии гематологом для обеспечения точной интерпретации результатов тестов. Способ может включать подтверждение того, что паттерн экспрессии коррелирует с ожидаемым паттерном. Например, когда анализируется количество первого целевого белка и/или экспрессия второго целевого белка, способ может включать подтверждение того, что в исследуемом образце наблюдается экспрессия в виде окрашивания мембраны цитоплазматическим компонентом. Способ может включать подтверждение того, что отношение целевого сигнала к шуму выше порогового уровня, что позволяет четко различать конкретные и неспецифические фоновые сигналы.

Первый целевой белок предпочтительно представляет собой CD25.

### **Способы лечения**

Термин «лечение», используемый в настоящем документе в контексте лечения состояния, обычно относится к лечению и терапии, будь то человека или животного (например, в ветеринарии), при которых достигается некоторый желаемый терапевтический эффект, например, ингибирование прогрессирования состояния и включает снижение скорости прогрессирования, остановку скорости прогрессирования,

регресс состояния, улучшение состояния и излечение состояния. Также лечение включено в качестве профилактической меры (т.е. профилактика, предотвращение).

Термин «терапевтически эффективное количество» или «эффективное количество», в контексте настоящего документа, относится к тому количеству активного соединения или материала, композиции или дозировки, включающей активное соединение, которое эффективно для получения некоторого желаемого терапевтического эффекта, соразмерного с разумным соотношением польза/риск при введении в соответствии с желаемой схемой лечения.

Аналогичным образом, термин «профилактически эффективное количество», в контексте настоящего документа, относится к тому количеству активного соединения или материала, композиции или дозировки, включающей активное соединение, которое эффективно для получения желаемого профилактического эффекта, соизмеримого с разумным соотношением польза/риск при введении в соответствии с желаемой схемой лечения.

Способы терапии описаны в данном документе. Также предложен способ лечения, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества ADC и гемцитабина, или 5-фторурацила. Термин «терапевтически эффективное количество» означает количество, достаточное для того, чтобы продемонстрировать пользу субъекту. Такая польза может заключаться по меньшей мере в облегчении по меньшей мере одного симптома. Фактическое вводимое количество, а также скорость и продолжительность введения будут зависеть от природы и тяжести заболевания. Назначение лечения, например, решение о дозировке находится в сфере ответственности практикующих врачей и других врачей. Субъект мог быть протестирован для определения его соответствия критериям для получения лечения в соответствии с раскрытыми в настоящем документе способами. Способ лечения может включать этап определения того, соответствует ли субъект критериям для получения лечения, с использованием раскрытого в данном документе способа.

ADC может содержать антитело к CD25. Антитело к CD25 может представлять собой NuMax-TAC™. ADC может содержать лекарственное средство, которое представляет собой димер PBD. ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, и в частности ADCX25 или ADCT-301. ADC может представлять собой ADC, раскрытый в WO2014/057119.

Лечение может включать введение комбинации ADC/гемцитабин или 5-фторурацил по отдельности или в дополнительной комбинации с другими видами лечения, одновременно или последовательно, в зависимости от состояния, подлежащего лечению. Примеры лечения и терапии включают, но не ограничиваются ими, химиотерапию (введение активных агентов, включая, например, лекарственные средства, такие как химиотерапевтические средства); операцию; и лучевую терапию.

«Химиотерапевтическое средство» представляет собой химическое соединение, используемое при лечении рака, независимо от механизма действия. Классы химиотерапевтических средств включают, но не ограничиваются ими: алкилирующие агенты, антиметаболиты, растительные алкалоиды веретенового яда, цитотоксические/противоопухолевые антибиотики, ингибиторы топоизомеразы, антитела, фотосенсибилизаторы и ингибиторы киназ. Химиотерапевтические средства включают соединения, используемые в «целевой терапии» и обычной химиотерапии.

Примеры химиотерапевтических средств включают: леналидомид (REVLIMID®, Celgene), вориностат (ZOLINZA®, Merck), панобиностат (FARYDAK®, Novartis), моцетиностат (MGCD0103), эверолимус (ZORTRESS®, CERTICAN®, Novartis), бендамустин (TREAKISYM®, RIBOMUSTIN®, LEVACT®, TREANDA®, Mundipharma International), эрлотиниб (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), доцетаксел (TAXOTERE®, Sanofi-Aventis), 5-FU (фторурацил, 5-фторурацил, № CAS 51-21-8), гемцитабин (GEMZAR®, Lilly), PD-0325901 (№ CAS 391210-10-9, Pfizer), цисплатин (цис-диамин, дихлорплатина(II), № CAS 15663-27-1), карбоплатин (№ CAS 41575-94-4), паклитаксел (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, Нью-Джерси), трастузумаб (HERCEPTIN®, Genentech), темозоломид (4-метил-5-оксо-2,3,4,6,8-пентазабицикло[4.3.0]нона-2,7,9-триен-9-карбоксамид, № CAS 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough), тамоксифен ((Z)-2-[4-(1,2-дифенилбут-1-енил)фенокси]-N,N-диметилэтанамин, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®) и доксорубицин (ADRIAMYCIN®), Akti-1/2, HPPD и рапамицин.

Другие примеры химиотерапевтических средств включают: оксалиплатин (ELOXATIN®, Sanofi), бортезомиб (VELCADE®, Millennium Pharm.), сутент (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), летрозол (FEMARA®, Novartis), иматиниба мезилат (GLEEVEC®, Novartis), XL-518 (ингибитор Mek, Exelixis, WO 2007/044515), ARRY-886 (ингибитор Mek, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca), SF-1126 (ингибитор PI3K, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (ингибитор PI3K, Novartis), XL-147 (ингибитор PI3K, Exelixis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), фулвестрант (FASLODEX®, AstraZeneca), лейковорин (фолиновая кислота), рапамицин (сиролимус, RAPAMUNE®, Wyeth), лапатиниб (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline),

лонафарниб (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), сорафениб (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), гефитиниб (IRESSA®, AstraZeneca), иринотекан (CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer), типифарниб (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), ABRAXANE™ (без кремофора), альбуминовые наноконструкции паклитаксела (American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, IL), вандетаниб (rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca), хлорамбуцил, AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), темсиролимус (TORISEL®, Wyeth), пазопаниб (GlaxoSmithKline), канфосфамид (TELCYTA®, Telik), тиотепа и циклофосфамид (CYTOXAN®, NEOSAR®); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентиофосфорамид и триметилломеламин; ацетогенины (особенно буллатацин и буллатацинон); камптотецин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистанин; CC-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); криптофицины (особенно криптофицин 1 и криптофицин 8); доластанин; дуокармицин (включая синтетические аналоги KW-2189 и CB1-TM1); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктиин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид оксида мехлорэтамина, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урамустин; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимнустин; антибиотики, такие как эндииновые антибиотики (например, калихеамицин, калихеамицин гамма11, калихеамицин омега1 (*Angew Chem. Intl. Ed. Engl.*(1994) 33: 183-186); динемидин, динемидин А; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также хромофор неокарзиностатина и родственные хромопротеиновые эндииновые антибиотические хромофоры), аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карзинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, морфолинодоксирубицин, цианоморфолинодоксирубицин, 2-пирролинодоксирубицин и дезоксидоксирубицин), эпирубицин, эсорибуцин, идарубицин, неморибуцин, марцелломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, порфирамицин, пурамицин, келамицин, родорибуцин, стрептоницин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностанин, зорибуцин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат,

эпителиостанол, мепителиостан, тестолактон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; поплнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеллатон; гликозид альдофосфамида; аминоклевулиновая кислота; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиковон; эльфорнитин; эллиптиния ацетат; эпотилон; этоглюцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидаинин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитраерин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK® полисахаридный комплекс (JHS Natural Products, Юджин, Орегон); азоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиковон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактон; пипоброман; гацитозин; арабинозид («Ага-С»); циклофосфамид; тиотепа; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги на основе платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; винорелбин (NAVELBINE®); новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоклутерин; капецитабин (XELODA®, Roche); ибандронат; СРТ-11; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; диформетилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты и производные любого из вышеперечисленных. Могут использоваться комбинации средств, таких как СНР (доксорубицин, преднизон, циклофосфамид) или СНОР (доксорубицин, преднизон, циклофосфамид, винкристин).

В определение «химиотерапевтическое средство» также входят: (i) антигормональные агенты, которые регулируют или ингибируют действие гормонов на опухоли, такие как антиэстрогены и селективные модуляторы рецепторов эстрогена (SERM), включая, например, тамоксифен (включая NOLVADEX®; тамоксифена цитрат), ралоксифен, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и FARESTON® (цитрат торемифена); (ii) ингибиторы ароматазы, которые ингибируют фермент ароматазу, который регулирует выработку эстрогена в надпочечниках, такие как, например, 4(5)-имидазолы, аминоклутетимид, MEGASE® (мегестрола ацетат), AROMASIN® (эксеместан; Pfizer), форместан, фадрозол, RIVISOR® (ворозол), FEMARA® (летрозол; Novartis) и ARIMIDEX® (анастрозол; AstraZeneca); (iii) антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; а также троксацитабин (аналог цитозина 1,3-диоксоланового нуклеозида); (iv) ингибиторы протеинкиназы, такие как ингибиторы MEK (WO 2007/044515); (v) ингибиторы липидкиназы; (vi) антисмысловые олигонуклеотиды, особенно те, которые ингибируют экспрессию генов в сигнальных

путях, участвующих в aberrантной пролиферации клеток, например, PKC-альфа, Raf и H-Ras, такие как облимерсен (GENASENSE®, Genta Inc.); (vii) рибозимы, такие как ингибиторы экспрессии VEGF (например, ANGIOZYME®) и ингибиторы экспрессии HER2; (viii) вакцины, такие как вакцины для генной терапии, например, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® и VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; ингибиторы топоизомеразы 1, такие как LURTOTECAN®; ABARELIX® mRH; (ix) антиангиогенные средства, такие как бевацизумаб (AVASTIN®, Genentech); и фармацевтически приемлемые соли, кислоты и производные любого из вышеперечисленных.

Также в определение «химиотерапевтическое средство» входят лекарственные средства на основе моноклональных антител, такие как алемтузумаб (Campath), бевацизумаб (AVASTIN®, Genentech); цетуксимаб (ERBITUX®, Imclone); панитумумаб (VECTIBIX®, Amgen), ритуксимаб (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec), офатумумаб (ARZERRA®, GSK), пертузумаб (PERJETA™, OMNITARG™, 2C4, Genentech), трастузумаб (HERCEPTIN®, Genentech), тозитумомаб (Веххар, Corixia), MDX-060 (Medarex) и конъюгат антитело-лекарственное средство, гемтузумаб озогамин (MYLOTARG®, Wyeth).

Гуманизированные моноклональные антитела с терапевтическим потенциалом в качестве химиотерапевтических средств в комбинации с конъюгатами по настоящему изобретению включают: алемтузумаб, аполизумаб, азелизумаб, атлизумаб, бапинеузумаб, бевацизумаб, биватузумаб мертанзин, кантузумаб мертанзин, седелизумаб, цертолизумаба пэгол, сидфузитузумаб, цидтузумаб, даклизумаб, экулизумаб, эфализумаб, эпратузумаб, эрлизумаб, фельвизумаб, фонтолизумаб, гемтузумаб озогамин, инотузумаб озогамин, ипилимумаб, лабетузумаб, линтузумаб, матузумаб, меполизумаб, мотавизумаб, мотовизумаб, натализумаб, нимотузумаб, ноловизумаб, нумавизумаб, окрелизумаб, омализумаб, паливизумаб, пасколизумаб, пекфузитузумаб, пектузумаб, пертузумаб, пекселизумаб раливизумаб, ранибизумаб, ресливизумаб, реслизумаб, ресивизумаб, ровелизумаб, руплизумаб, сибротузумаб, сиплизумаб, сонтузумаб, такатузумаб, тетраксетан, тадоцизумаб, тализумаб, тефибазумаб, тоцилизумаб, торализумаб, трастузумаб, тукотузумаб, целмолейкин, тукуситузумаб, умавизумаб, уртоксазумаб и визилизумаб.

Композиции согласно настоящему изобретению предпочтительно представляют собой фармацевтические композиции. Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением и для использования в соответствии с настоящим изобретением могут содержать, помимо активного ингредиента, то есть конъюгированного соединения, фармацевтически приемлемое вспомогательное

вещество, носитель, буфер, стабилизатор или другие материалы, хорошо известные специалисту в данной области техники. Такие материалы должны быть нетоксичными и не должны влиять на эффективность активного ингредиента. Точная природа носителя или другого материала будет зависеть от пути введения, который может быть пероральным или путем инъекции, например кожной, подкожной или внутривенной.

Фармацевтические композиции для перорального введения могут быть в форме таблеток, капсул, порошка или жидкости. Таблетка может содержать твердый носитель или адъювант. Жидкие фармацевтические композиции обычно содержат жидкий носитель, такой как вода, петролейный эфир, животные или растительные масла, минеральное масло или синтетическое масло. Могут быть включены физиологический солевой раствор, раствор декстрозы или другого сахара или гликоли, такие как этиленгликоль, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль. Капсула может содержать твердый носитель, такой как желатин.

Для внутривенной, кожной или подкожной инъекции или инъекции в место поражения активный ингредиент будет в форме парентерально приемлемого водного раствора, не содержащего пирогенов и имеющего подходящие рН, изотоничность и стабильность. Специалисты в данной области техники могут хорошо приготовить подходящие растворы, используя, например, изотонические носители, такие как физиологический раствор для инъекций, раствор Рингера для инъекций, лактатный раствор Рингера для инъекций. При необходимости могут быть включены консерванты, стабилизаторы, буферы, антиоксиданты и/или другие добавки.

### **Дозировка**

Специалисту в данной области техники будет понятно, что подходящие дозировки АСД и/или гемцитабина или 5-фторурацила и композиций, содержащих эти активные элементы, могут варьироваться от субъекта к субъекту. Определение оптимальной дозировки обычно включает балансирование уровня терапевтического эффекта с любым риском или вредными побочными эффектами. Выбранный уровень дозировки будет зависеть от множества факторов, включая, но не ограничиваясь, активность конкретного соединения, способ введения, время введения, скорость выведения соединения, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, используемые в комбинации, тяжесть состояния и вид, пол, возраст, масса тела, состояние, общее состояние здоровья и предыдущий медицинский анамнез субъекта. Количество соединения и способ введения в конечном итоге будут определяться врачом, ветеринаром или клиницистом, хотя обычно дозировка будет выбрана для достижения локальных концентраций в месте действия, которые достигают

желаемого эффекта, не вызывая существенных вредных или опасных побочных эффектов.

В некоторых аспектах дозировка ADC определяется экспрессией первого целевого белка, наблюдаемой в образце, полученном от субъекта. Таким образом, уровень или локализация экспрессии первого целевого белка в образце может указывать на то, что требуется более высокая или более низкая доза ADC. Например, высокий уровень экспрессии первого целевого белка может указывать на то, что более высокая доза ADC будет подходящей. В некоторых случаях высокий уровень экспрессии первого целевого белка может указывать на необходимость введения другого агента в дополнение к ADC. Например, введение ADC вместе с химиотерапевтическим агентом. Высокий уровень экспрессии первого целевого белка может указывать на необходимость более агрессивной терапии.

В определенных аспектах уровень дозировки определяется экспрессией первого целевого белка на поверхности неопластических клеток в образце, полученном от субъекта. Например, если целевое новообразование состоит из неопластических клеток, экспрессирующих первый целевой белок, или включает их.

В некоторых аспектах уровень дозировки определяется экспрессией первого целевого белка на клетках, связанных с целевым новообразованием. Например, целевая неоплазма может представлять собой солидную опухоль, состоящую из неопластических клеток, экспрессирующих первый целевой белок, или включающих их. Например, целевая неоплазма может представлять собой солидную опухоль, состоящую из или содержащую неопластические клетки, которые не экспрессируют первый целевой белок. Клетки, экспрессирующие первый целевой белок, могут быть неопухолевыми клетками, инфильтрирующими солидную опухоль, такими как инфильтрирующие Т-клетки.

В некоторых аспектах дозировка гемцитабина или 5-фторурацила определяется экспрессией второго целевого белка, наблюдаемой в образце, полученном от субъекта. Таким образом, уровень или локализация экспрессии второго целевого белка в образце может указывать на то, что требуется более высокая или более низкая доза гемцитабина или 5-фторурацила. Например, высокий уровень экспрессии второго целевого белка может указывать на то, что подойдет более высокая доза гемцитабина или 5-фторурацила. В некоторых случаях высокий уровень экспрессии второго целевого белка может указывать на необходимость введения другого агента в дополнение к гемцитабину или 5-фторурацилу. Например, введение гемцитабина или 5-фторурацила в сочетании с

химиотерапевтическим средством. Высокий уровень экспрессии второго целевого белка может указывать на более агрессивную терапию.

Введение может осуществляться одной дозой, непрерывно или периодически (например, в виде разделенных доз с соответствующими интервалами) на протяжении всего курса лечения. Способы определения наиболее эффективных средств и дозировки хорошо известны специалистам в данной области техники и будут варьироваться в зависимости от композиции, используемой для терапии, цели терапии, целевой клетки (клеток), подвергаемой лечению, и субъекта, который подвергается лечению. Можно проводить однократное или многократное введение, при этом уровень дозы и характер дозы выбирает лечащий врач, ветеринар или клиницист.

Как правило, подходящая доза каждого активного соединения находится в диапазоне от около 100 нг до около 25 мг (более типично от около 1 мкг до около 10 мг) на килограмм массы тела субъекта в день. Если активное соединение представляет собой соль, сложный эфир, амид, пролекарство или подобное, вводимое количество рассчитывается на основе исходного соединения, и поэтому фактическая масса, которую нужно использовать, увеличивается пропорционально.

В одном варианте осуществления каждое активное соединение вводят человеку в соответствии со следующей схемой введения: около 100 мг 3 раза в день.

В одном варианте осуществления каждое активное соединение вводят человеку в соответствии со следующей схемой введения: около 150 мг 2 раза в день.

В одном варианте осуществления каждое активное соединение вводят человеку в соответствии со следующей схемой введения: около 200 мг 2 раза в день.

Однако в одном варианте осуществления каждое соединение-конъюгат вводят человеку в соответствии со следующей схемой введения: около 50 или около 75 мг, 3 или 4 раза в день.

В одном варианте осуществления каждое соединение-конъюгат вводят человеку в соответствии со следующей схемой введения: около 100 мг или около 125 мг, 2 раза в день.

Для ADC, если это ADC, несущий PBD, количество доз, описанное выше, может применяться к конъюгату (включая фрагмент PBD и линкер к антителу) или к эффективному количеству предоставленного соединения PBD, например, количеству соединения, которое высвобождается после расщепления линкера.

Первый целевой белок предпочтительно представляет собой CD25. ADC может содержать антитело к CD25. Антитело к CD25 может представлять собой HuMax-TAC™. ADC может содержать лекарственное средство, которое представляет собой димер PBD. ADC может представлять собой анти-CD25-ADC, в частности, предпочтительно ADCX25 или ADCT-301. ADC может представлять собой ADC, раскрытый в WO2014/057119.

## **Антитела**

Термин «антитело» в контексте настоящего документа используется в самом широком смысле и конкретно охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, димеры, мультимеры, мультиспецифические антитела (*например*, биспецифические антитела), интактные антитела (также описываемые как «полноразмерные» антитела) и фрагменты антител, при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность, например, способность связывать первый целевой белок (Miller *et al* (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). Антитела могут представлять собой мышинные, человеческие, гуманизированные, химерные антитела или могут быть получены от других видов, таких как кролик, коза, овца, лошадь или верблюд.

Антитело представляет собой белок, вырабатываемый иммунной системой, который способен распознавать и связываться с конкретным антигеном. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology, 5th Ed.*, Garland Publishing, New York). Целевой антиген обычно имеет множество сайтов связывания, также называемых эпитопами, распознаваемых определяющими комплементарность областями (CDR) на множественных антителах. Каждое антитело, которое специфически связывается с разными эпитопами, имеет разную структуру. Таким образом, один антиген может иметь более одного соответствующего антитела. Антитело может содержать полноразмерную молекулу иммуноглобулина или иммунологически активную часть полноразмерной молекулы иммуноглобулина, *то* есть молекулу, которая содержит антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывает антиген представляющей интерес цели или ее части, такие мишени включают, но не ограничиваются ими, раковая клетка или клетки, вырабатывающие аутоиммунные антитела, связанные с аутоиммунным заболеванием. Иммуноглобулин может представлять собой иммуноглобулин любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и

IgA2), подкласса или аллотипа (например, G1m1, G1m2, G1m3, не-G1m1 [то есть любой аллотип, отличный от G1m1], G1m17, G2m23, G3m21, G3m28, G3m11, G3m5, G3m13, G3m14, G3m10, G3m15, G3m16, G3m6, G3m24, G3m26, G3m27, A2m1, A2m2, Km1, Km2 и Km3 человека) молекулы иммуноглобулина. Иммуноглобулины могут быть получены от любого вида, включая иммуноглобулины, происходящие от человека, мыши или кролика.

Термин «фрагменты антитела» включает часть полноразмерного антитела, обычно его антигенсвязывающую или вариабельную область. Примеры фрагментов антител включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> и scFv; димера; линейные антитела; фрагменты, вырабатываемые библиотекой экспрессии Fab, антиидиотипические (анти-Id) антителам, CDR (определяющая комплементарность область) и эпитоп-связывающие фрагменты любого из вышеперечисленных, которые иммуноспецифически связываются с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами, одноцепочечные молекулы антител; и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

Термин «моноклональное антитело» в контексте настоящего документа относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела высокоспецифичны, они направлены против одного антигенного сайта. Кроме того, в отличие от препаратов поликлональных антител, которые включают различные антитела, направленные на разные детерминанты (эпитопы), каждое моноклональное антитело направлено на одну детерминанту антигена. Помимо своей специфичности, моноклональные антитела имеют то преимущество, что они могут синтезироваться без загрязнения другими антителами. Модификатор «моноклональное» указывает на характер антитела как полученного из по существу гомогенной популяции антител и не должен толковаться как требующий получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела, которые будут использоваться в соответствии с настоящим описанием, могут быть получены гибридным способом, впервые описанным Kohler *et al* (1975) *Nature* 256:495, или могут быть получены способами рекомбинантной ДНК (см. US 4816567). Моноклональные антитела также могут быть выделены из библиотек фаговых антител с использованием способов, описанных в Clackson *et al* (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks *et al* (1991) *J. Mol.*, 222:581-597, или от трансгенных мышей, несущих полностью человеческую иммуноглобулиновую систему (Lonberg (2008) *Curr. Opinion* 20(4):450-459).

Моноклональные антитела в настоящем документе, в частности, включают «химерные» антитела, в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от определенного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, а остальная часть цепи (цепей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность (US 4816567; и Morrison *et al* (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855). Химерные антитела включают «приматизированные» антитела, содержащие антигенсвязывающие последовательности переменного домена, полученные от нечеловеческих приматов (например, мартышковые или человекообразные обезьяны), и последовательности константных областей человека.

Термин «интактное антитело» в контексте настоящего изобретения представляет собой антитело, содержащее домены VL и VH, а также константный домен легкой цепи (CL) и константные домены тяжелой цепи, CH1, CH2 и CH3. Константные домены могут быть константными доменами нативной последовательности (например, константными доменами нативной последовательности человека) или вариантом их аминокислотной последовательности. Интактное антитело может иметь одну или более «эффektorных функций», которые относятся к той биологической активности, которая присуща Fc-области (Fc-области с нативной последовательностью или Fc-области с вариантами аминокислотной последовательности) антитела. Примеры эффektorных функций антитела включают связывание C1q; комплемент-зависимую цитотоксичность; связывание с рецептором Fc; антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (АЗКЦ); фагоцитоз; и подавление рецепторов клеточной поверхности, таких как рецептор В-клеток и BCR.

В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей интактные антитела можно отнести к разным «классам». Есть пять основных классов интактных антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и некоторые из них могут быть дополнительно разделены на «подклассы» (изотипы), *например*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Константные домены тяжелой цепи, которые соответствуют различным классам антител, называются  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  и  $\mu$  соответственно. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны.

Антитела к CD25 известны в данной области техники и могут использоваться в раскрытых настоящем документе способах. К ним относятся антитела 4C9 (полученные от Ventana

Medical Systems, Inc.). Другие подходящие антитела включают антитело AB12, описанное в WO 2004/045512 (Genmab A/S), IL2R.1 (доступное от Life Technologies, номер по каталогу MA5-12680) и RFT5 (описанное в US6383487). Другие подходящие антитела включают B489 (143-13) (доступное от Life Technologies, номер по каталогу MA1-91221), SP176 (доступное от Novus, номер по каталогу NBP2-21755), 1B5D12 (доступное от Novus, номер по каталогу NBP2-37349), 2R12 (доступное от Novus, номер по каталогу NBP2-21755) или BC96 (доступное от BioLegend, номер по каталогу V T-072) и M-A251 (доступное от BioLegend, номер по каталогу IV A053). Другими подходящими антителами к CD25 являются даклизумаб (Zenpax™) и базиликсимаб (Simulect™), оба из которых были одобрены для клинического использования.

Антитела к PD-L1 известны в данной области техники и могут использоваться в раскрытых настоящем документе способах. Такие антитела включают атезолизумаб (MPDL3280; номер CAS 1380723-44-3), авелумаб (MSB0010718C; номер CAS 1537032-82-8) и дурвалумаб (номер CAS 1428935-60-7).

### **Краткое описание графических материалов**

Варианты осуществления и эксперименты, иллюстрирующие принципы раскрытия, теперь будут обсуждаться со ссылкой на прилагаемые фигуры, на которых:

Фиг. 1. Последовательности

Фиг. 2. Исследование эффективности *in vivo* тестируемой комбинации sur301 с гемцитабином на сингенной модели CT26

Раскрытие включает комбинацию описанных аспектов и предпочтительных признаков, за исключением случаев, когда такая комбинация явно недопустима или явно не допускается.

Заголовки разделов, используемые в настоящем описании, предназначены только для организационных целей и не должны толковаться как ограничивающие описанный предмет.

Аспекты и варианты осуществления настоящего раскрытия теперь будут проиллюстрированы в качестве примера со ссылкой на прилагаемые фигуры. Дополнительные аспекты и варианты осуществления будут очевидны специалистам в данной области техники.

Во всем настоящем описании, включая прилагаемую формулу изобретения, если контекст не требует иного, слово «содержать» и варианты, такие как «содержит» и «содержащий», будут пониматься как подразумевающие включение указанного целого числа, или стадии, или группы целых чисел, или стадий, но не исключение любого другого целого числа, стадии или группы целых чисел или стадий.

Следует отметить, что, как они используются в описании и прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа включают ссылки на множественное число, если контекст явно не диктует иное. Диапазоны могут быть выражены в настоящем документе как от «около» одного конкретного значения и/или до «около» другого конкретного значения. Когда выражен такой диапазон, другой вариант осуществления включает от одного конкретного значения и/или до другого конкретного значения. Точно так же, когда значения выражаются как приближения, с использованием условия «около», следует понимать, что конкретное значение образует другой вариант осуществления.

## НЕКОТОРЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Следующие параграфы описывают некоторые конкретные варианты осуществления настоящего раскрытия:

1. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества ADCX25 или ADCT-301 и гемцитабина.
2. Первая композиция, содержащая ADCX25 или ADCT-301, для применения в способе лечения рака у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей гемцитабин.
3. Первая композиция, содержащая гемцитабин, для применения в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей ADCX25 или ADCT-301.
4. Применение ADCX25 или ADCT-301 при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, в котором лекарственное средство содержит ADCX25 или ADCT-301, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей гемцитабин.
5. Применение гемцитабина при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, в котором лекарственное средство включает гемцитабин, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей ADCX25 или ADCT-301.
6. Набор, содержащий:  
первое лекарственное средство, содержащее ADCX25 или ADCT-301;  
второе лекарственное средство, содержащее гемцитабин; и, необязательно,  
листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению первого лекарственного средства индивидууму в комбинации со вторым лекарственным средством для лечения рака.
7. Набор, содержащий лекарственное средство, содержащее ADCX25 или ADCT-301, и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей гемцитабин, для лечения рака.

8. Набор, содержащий лекарственное средство, содержащее гемцитабин, и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей ADCX25 или ADCT-301, для лечения рака.
9. Фармацевтическая композиция, содержащая ADCX25 или ADCT-301 и гемцитабин.
10. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции по варианту осуществления 9.
11. Композиция по варианту осуществления 9 для применения в способе лечения рака у индивидуума.
12. Применение композиции по варианту осуществления 9, при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума.
13. Набор, содержащий композицию по варианту осуществления 9 и набор инструкций по введению лекарственного средства индивидууму для лечения рака.
14. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение включает введение ADCX25 или ADCT-301 до гемцитабина, одновременно с гемцитабином, или после гемцитабина.
15. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение дополнительно включает введение химиотерапевтического агента.
16. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум является человеком.
17. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет или было определено, что он имеет рак.
18. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, характеризующийся наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

19. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, характеризующийся наличием новообразования, содержащего или состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток.

20. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых рак или новообразование представляет собой всю или часть солидной опухоли.

21. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует CD25 или CD25+ ассоциированные с опухолью неопухолевые клетки, такие как CD25+ инфильтрирующие Т-клетки.

22. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует низкий уровень поверхностной CD25.

23. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует второй целевой белок.

24. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение:

- a) эффективно лечит более широкий спектр расстройств,
  - b) эффективно лечит резистентные, рефрактерные или рецидивирующие расстройства,
  - c) имеет повышенную частоту ответа и/или
  - d) обладает повышенной продолжительностью наблюдаемого эффекта;
- по сравнению с лечением только ADCX25, ADCT-301 или гемцитабином.

25. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых рак выбран из группы, включающей:

лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ);

лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ);

рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному, и рак головы и шеи.

-----

1а. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества ADCX25 или ADCT-301 и 5-фторурацила.

2а. Первая композиция, содержащая ADCX25 или ADCT-301, для применения в способе лечения рака у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей 5-фторурацил.

3а. Первая композиция, содержащая 5-фторурацил, для применения в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей ADCX25 или ADCT-301.

4а. Применение ADCX25 или ADCT-301 при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, в котором лекарственное средство содержит ADCX25 или ADCT-301, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей 5-фторурацил.

5а. Применение 5-фторурацила при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, в котором лекарственное средство включает 5-фторурацил, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей ADCX25 или ADCT-301.

6а. Набор, содержащий:

первое лекарственное средство, содержащее ADCX25 или ADCT-301;

второе лекарственное средство, содержащее 5-фторурацил; и, необязательно,

листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению первого лекарственного средства индивидууму в комбинации со вторым лекарственным средством для лечения рака.

7а. Набор, содержащий лекарственное средство, содержащее ADCX25 или ADCT-301, и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей 5-фторурацил, для лечения рака.

8а. Набор, содержащий лекарственное средство, содержащее 5-фторурацил, и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей ADCX25 или ADCT-301, для лечения рака.

9а. Фармацевтическая композиция, содержащая ADCX25 или ADCT-301 и 5-фторурацил.

10а. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции по п. 9а.

11а. Композиция по варианту осуществления 9 для применения в способе лечения рака у индивидуума.

12а. Применение композиции по варианту осуществления 9а при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума.

13а. Набор, содержащий композицию по варианту осуществления 9а и набор инструкций по введению лекарственного средства индивидууму для лечения рака.

14а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение включает введение ADCX25 или ADCT-301 до 5-фторурацила, одновременно с 5-фторурацилом, или после 5-фторурацила.

15а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение дополнительно включает введение химиотерапевтического агента.

16a. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум является человеком.

17a. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет или было определено, что он имеет рак.

18a. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, характеризующийся наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

19a. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, характеризующийся наличием новообразования, содержащего или состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток.

20a. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых рак или новообразование представляет собой всю или часть солидной опухоли.

21a. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует CD25 или CD25+ ассоциированные с опухолью неопухолевые клетки, такие как CD25+ инфильтрирующие Т-клетки.

22a. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует низкий уровень поверхностной CD25.

23a. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует второй целевой белок.

24a. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение:

- а) эффективно лечит более широкий спектр расстройств,

- b) эффективно лечит резистентные, рефрактерные или рецидивирующие расстройства,
  - c) имеет повышенную частоту ответа и/или
  - d) обладает повышенной продолжительностью наблюдаемого эффекта;
- по сравнению с лечением только ADCX25, ADCT-301 или 5-фторурацилом.

25а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых рак выбран из группы, включающей:

лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ);

лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ);

рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному, и рак головы и шеи.

## СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения расстройства у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества ADC и гемцитабина.
2. Первая композиция, содержащая ADC, для применения в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей гемцитабин.
3. Первая композиция, содержащая гемцитабин, для применения в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей ADC.
4. Применение ADC при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, в котором лекарственное средство включает ADC, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей гемцитабин.
5. Применение гемцитабина при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, в котором лекарственное средство включает гемцитабин, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей ADC.
6. Набор, содержащий:  
первое лекарственное средство, содержащее ADC;  
второе лекарственное средство, содержащее гемцитабин; и, необязательно,  
листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению первого лекарственного средства индивидууму в комбинации со вторым лекарственным средством для лечения расстройства.
7. Набор, содержащий лекарственное средство, содержащее ADC и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей гемцитабин, для лечения расстройства.
8. Набор, содержащий лекарственное средство, содержащее гемцитабин и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей ADC, для лечения расстройства.

9. Фармацевтическая композиция, содержащая ADC и гемцитабин.
10. Способ лечения расстройства у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции по варианту осуществления 9.
11. Композиция по варианту осуществления 9 для использования в способе лечения расстройства у индивидуума.
12. Применение композиции по варианту осуществления 9, при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума.
13. Набор, содержащий композицию по варианту осуществления 9 и набор инструкций по введению лекарственного средства индивидууму для лечения расстройства.
14. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение включает введение ADC до гемцитабина, одновременно с гемцитабином, или после гемцитабина.
15. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение дополнительно включает введение химиотерапевтического агента.
16. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум является человеком.
17. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет расстройство или было определено, что он имеет расстройство.
18. Композиция, способ, применение или набор по варианту осуществления 17, в которых индивидуум имеет или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует CD25 или CD25+ ассоциированные с опухолью неопухолевые клетки, такие как CD25+ инфильтрирующие Т-клетки.
19. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение:

- a) эффективно лечит более широкий спектр расстройств,
  - b) эффективно лечит резистентные, рефрактерные или рецидивирующие расстройства,
  - c) имеет повышенную частоту ответа и/или
  - d) обладает повышенной продолжительностью наблюдаемого эффекта;
- по сравнению с лечением только ADC или гемцитабином.

20. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых ADC представляет собой анти-CD25 ADC.

21. Композиция, способ, применение или набор по варианту осуществления 20, в которых анти-CD25 ADC представляет собой ADCX25 или ADCT-301.

22. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых расстройство представляет собой пролиферативное заболевание.

23. Композиция, способ, применение или набор по варианту осуществления 22, в которых расстройство представляет собой рак.

24. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих пунктов, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, характеризующийся наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

25. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих пунктов, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, характеризующийся наличием новообразования, содержащего или состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток.

26. Композиция, способ, применение или набор по любому из вариантов осуществления 24 или 25, в которой новообразование представляет собой всю или часть солидной опухоли.

27. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых расстройство выбрано из группы, включающей:

лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ);

лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (HCL), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (HCL-v) и острый миелоидный лейкоз (AML), острый лимфобластный лейкоз (ALL), например, положительный по филадельфийской хромосоме острый лимфобластный лейкоз ALL (Ph + ALL) или отрицательный по филадельфийской хромосоме острый лимфобластный лейкоз ALL (Ph-ALL);

рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному, и рак головы и шеи.

-----

1а. Способ лечения расстройства у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества ADC и 5-фторурацила.

2а. Первая композиция, содержащая ADC, для применения в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей 5-фторурацила.

3а. Первая композиция, содержащая 5-фторурацил, для применения в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей ADC.

4а. Применение ADC при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, в котором лекарственное средство включает ADC, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей 5-фторурацил.

5а. Применение 5-фторурацила при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума, в котором лекарственное средство включает 5-фторурацил, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей ADC.

- 6а. Набор, содержащий:  
первое лекарственное средство, содержащее ADC;  
второе лекарственное средство, содержащее 5-фторурацил; и, необязательно,  
листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению первого лекарственного средства индивидууму в комбинации со вторым лекарственным средством для лечения расстройства.
- 7а. Набор, содержащий лекарственное средство, содержащее ADC и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей 5-фторурацил, для лечения расстройства.
- 8а. Набор, содержащий лекарственное средство, содержащее 5-фторурацил и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей ADC, для лечения расстройства.
- 9а. Фармацевтическая композиция, содержащая ADC и 5-фторурацил.
- 10а. Способ лечения расстройства у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции по варианту осуществления 9.
- 11а. Композиция по варианту осуществления 9 для применения в способе лечения расстройства у индивидуума.
- 12а. Применение композиции по варианту осуществления 9а, при производстве лекарственного средства для лечения расстройства у индивидуума.
- 13а. Набор, содержащий композицию по варианту осуществления 9а и набор инструкций по введению лекарственного средства индивидууму для лечения расстройства.
- 14а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение включает введение ADC до 5-фторурацила, одновременно с 5-фторурацилом, или после 5-фторурацила.
- 15а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение дополнительно включает введение химиотерапевтического агента.

16а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум является человеком.

17а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых индивидуум имеет расстройство или было определено, что он имеет расстройство.

18а. Композиция, способ, применение или набор по варианту осуществления 17а, в которых индивидуум имеет или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует CD25 или CD25+ ассоциированные с опухолью неопухолевые клетки, такие как CD25+ инфильтрирующие Т-клетки.

19а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых лечение:

- а) эффективно лечит более широкий спектр расстройств,
  - б) эффективно лечит резистентные, рефрактерные или рецидивирующие расстройства,
  - с) имеет повышенную частоту ответа и/или
  - д) обладает повышенной продолжительностью наблюдаемого эффекта;
- по сравнению с лечением только ADC или 5-фторурацилом.

20а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых ADC представляет собой анти-CD25 ADC.

21а. Композиция, способ, применение или набор по варианту осуществления 20а, в которых ADC к CD25 представляет собой ADCX25 или ADCT-301.

22а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых расстройство представляет собой пролиферативное заболевание.

23а. Композиция, способ, применение или набор по варианту осуществления 22а, в которых расстройство представляет собой рак.

24а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих пунктов, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак,

характеризующийся наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.

25а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих пунктов, в которых индивидум имеет рак или было определено, что он имеет рак, характеризующийся наличием новообразования, содержащего или состоящего из CD25-отрицательных неопластических клеток.

26а. Композиция, способ, применение или набор по любому из вариантов осуществления 24а или 25а, в которых новообразование представляет собой всю или часть солидной опухоли.

27а. Композиция, способ, применение или набор по любому из предыдущих вариантов осуществления, в которых расстройство выбрано из группы, включающей:

лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ);

лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (HCL), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (HCL-v) и острый миелоидный лейкоз (AML), острый лимфобластный лейкоз (ALL), например, положительный по филадельфийской хромосоме острый лимфобластный лейкоз ALL (Ph + ALL) или отрицательный по филадельфийской хромосоме острый лимфобластный лейкоз ALL (Ph-ALL);

рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному, и рак головы и шеи.

## ПРИМЕРЫ

В следующих примерах:

- ПЦБ предпочтительно представляет собой CD25.
- Клеточные линии, экспрессирующие CD25, подходящие для использования в примерах, включают клетки L540, Karpas299, Sudhl1, HDLM-2.
- Заболевание А - диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома/ДБКЛ представляет собой агрессивный тип неходжкинской лимфомы, который развивается из В-клеток лимфатической системы. Это самая большая подгруппа неходжкинских лимфом.
- Заболевание В - мантийноклеточная лимфома/МКЛ представляет собой редкую В-клеточную НХЛ, которая чаще всего поражает мужчин старше 60 лет. Заболевание может быть агрессивным (быстрорастущее), но у некоторых пациентов оно также может протекать более индолентно (медленнорастущее). MCL составляет около пяти процентов всех НХЛ.
- Заболевание С - фолликулярная лимфома/ФЛ представляет собой довольно индолентный тип НХЛ с длительным временем выживания, но от которого очень трудно добиться излечения; он также может трансформироваться в более агрессивные формы лимфомы.

### Пример 1

Чтобы показать, что PBD-ADC может вызывать ICD и, следовательно, может быть подходящим комбинированным агентом с иммуноонкологическими (ИО) лекарственными средствами, клеточные линии, экспрессирующие первый целевой белок (ПЦБ), будут инкубированы в течение 0, 6, 24 и 48 часов с этопозидом (отрицательный контроль) и оксалиплатином (положительный контроль), 1 мкг/мл ADC, 1 мкг/мл анти-ПЦБ (антитело в ADC) и 1 мкг/мл B12-SG3249 (несвязывающий контроль ADC с той же полезной нагрузкой PBD, что и ADC).

После инкубации количество AnnexinV-/PI + (клеток с ранним апоптозом) будет измеряться проточной цитометрией вместе с повышенной регуляцией поверхностного кальретикулина и HSP-70. Стресс ER будет измеряться с помощью Нозерн-блоттинга фосфорилирования IRE1, фосфорилирования ATF4 и JNK.

### Пример 2

В отдельном эксперименте, клеточные линии, экспрессирующие FTP, будут инкубированы в течение 0, 6, 24 и 48 часов с этопозидом (отрицательный контроль) и

оксалиплатином (положительный контроль), 1 мкг/мл ADC (ADC нацеленное на ПЦБ с димером PBD в виде активной нагрузки), 1 мкг/мл анти-ПЦБ (антитело в ADC) и 1 мкг/мл B12-SG3249 (несвязывающий контроль ADC с той же полезной нагрузкой PBD, что и ADC).

После инкубации клетки промывали и скармливали дендритным клеткам человека (ДК) в течение дополнительных 24 часов. Затем активацию ДК измеряли по повышенному уровню экспрессии поверхностного CD86 в популяции ДК (как определено с помощью проточной цитометрии) и измерением опосредованного ДК высвобождения IL-8 и MIP2.

### Пример 3

Цель данного исследования заключается в предварительной оценке безопасности, переносимости, фармакологической и клинической активности этой комбинации

Для исследования были выбраны следующие типы рака: Заболевание А, Заболевание В и Заболевание С

Доказательства эффективности в качестве отдельных агентов существуют для обоих лекарственных средств:

- ADC (см., например, WO2014/057119, WO2016/083468 и WO2016/166341)
- Гемцитабин или 5-фторурацил (см. KS Peggs et al.2009, Clinical and Experimental Immunology, 157: 9–19 [doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03912.x])

Первичной целью этого исследования является изучение того, можно ли безопасно комбинировать эти агенты, и если да, то определить дозу(и) и схемы, подходящие для дальнейшего исследования. В исследовании также будет оценено, вызывает ли каждая комбинация фармакологические изменения опухоли, которые предполагают потенциальную клиническую пользу.

Кроме того, оно предоставит предварительные доказательства того, что комбинация может повысить частоту ответа и продолжительностью наблюдаемого эффекта по сравнению с опубликованными данными для лечения монотерапией ADC, гемцитабина или 5-фторурацила.

Каждая группа заболеваний может включать подгруппу пациентов, ранее получавших

лечение гемцитабином или 5-фторурацилом, чтобы выяснить, может ли комбинированная терапия преодолеть устойчивость к терапии гемцитабином или 5-фторурацилом. Для каждого заболевания не предполагается применять конкретный молекулярный отбор, поскольку имеющиеся в настоящее время данные, как правило, не поддерживают исключение пациентов на основе утвержденных молекулярных диагностических тестов.

#### Обоснование начальной дозы ADC

RDE для уже установленного ADC (в мкг/кг, вводимых каждые три недели) будет использоваться для всех пациентов в этом исследовании. Для обеспечения безопасности пациента будет использоваться начальная доза ниже RDE; начальный уровень дозы будет таким, при котором польза для пациента все еще может быть продемонстрирована в исследовании ADC1, что позволяет предположить, что пациенты, зарегистрированные при таком уровне дозы, получают хотя бы некоторую пользу от участия.

#### Обоснование начальной дозы гемцитабина или 5-фторурацила

Уже установленная RDE для гемцитабина или 5-фторурацила (в мкг/кг, вводимых каждые три недели) будет использоваться для всех пациентов в этом исследовании. Для обеспечения безопасности пациента будет использоваться начальная доза ниже RDE; начальный уровень дозы будет таким, при котором польза для пациента все еще может быть продемонстрирована в исследовании SA1, что позволяет предположить, что пациенты, зарегистрированные при таком уровне дозы, получают хотя бы некоторую пользу от участия.

#### Цели и соответствующие конечные точки

Цель	Конечная точка
<p><i>Первичная цель</i></p> <p>Охарактеризовать безопасность и переносимость ADC в комбинации с гемцитабином или 5-фторурацилом, а также определить рекомендуемые дозы и графики для будущих исследований.</p>	<p>Определить частоту и тяжесть НЯ и СНЯ, возникших в связи с лечением</p> <p>Определить изменения лабораторными параметрами на исходном уровне и после исходного уровня и показателями жизненно важных функций</p> <p>Определить частоту случаев дозолимитирующей токсичности (ДЛТ), во время первого цикла лечения (только с увеличением дозы)</p>

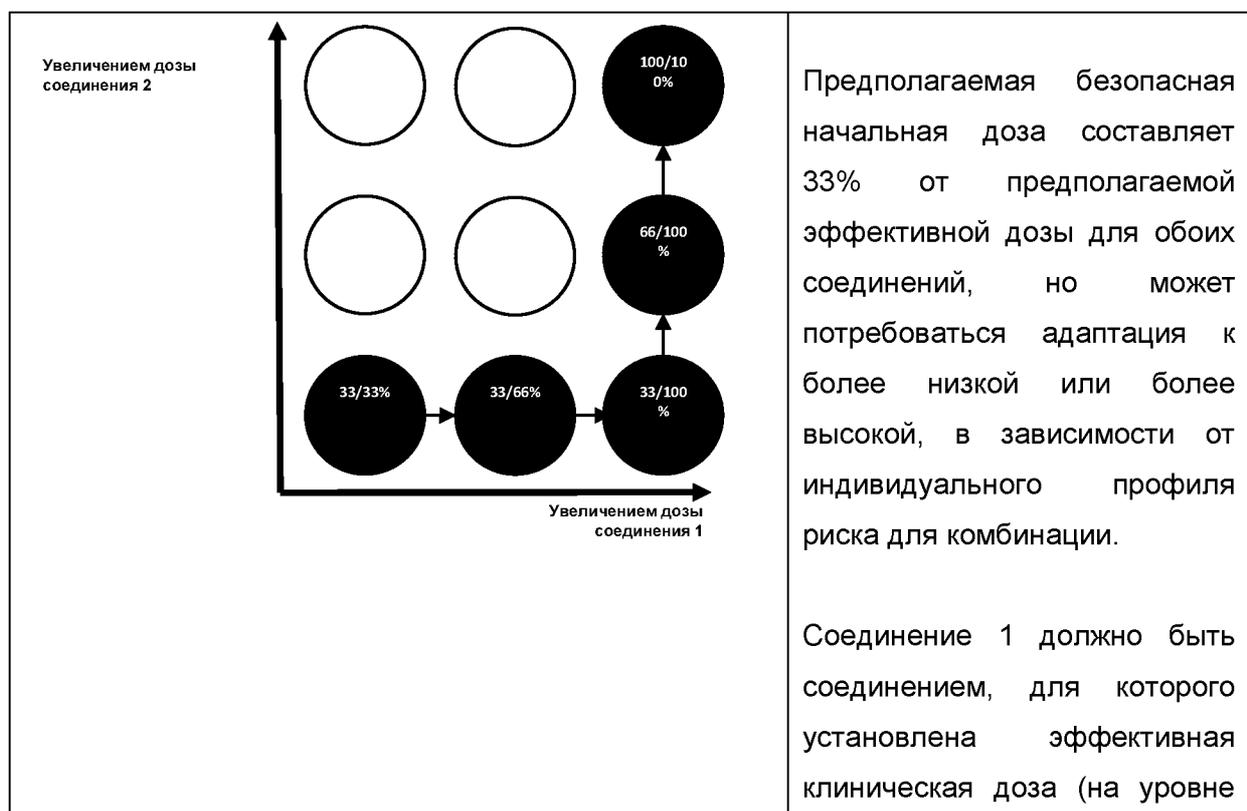
	<p>Определить частоту прерывания приема и снижения дозы</p>
<p><i>Вторичные цели</i></p> <p>Оценить клиническую активность комбинации ADC с гемцитабином или 5-фторурацилом.</p> <p>Охарактеризовать фармакокинетический (ФК) профиль каждого из двух соединений ADC и гемцитабина или 5-фторурацила</p> <p>Проверить наличие доказательств иммуногенности и АЛСА к ADC</p>	<p>ORR (частота объективного ответа), DOR (продолжительность ответа), PFS (выживаемость без признаков прогрессирования заболевания), OS (общая выживаемость)</p> <p>AUC и C<sub>max</sub> для каждого соединения</p> <p>Проверить содержание антител к лекарственному препарату (ADA) до, во время и после лечения ADC</p>
<p><i>Исследовательские цели</i></p> <p>Изучить потенциальную корреляцию профилей ФК с безопасностью/переносимостью и эффективностью.</p> <p>Охарактеризовать изменения иммунного инфильтрата при опухолях.</p> <p>Охарактеризовать изменение уровней циркулирующих цитокинов в плазме и маркеров активации в циркулирующих иммунных клетках.</p>	<p>Определить коэффициенты корреляции между AUC и/или C<sub>max</sub> для каждого соединения или показателя соединения и любыми переменными безопасности или эффективности</p> <p>Провести иммуногистохимический анализ биопсий опухоли до и после лечения,</p> <p>Провести измерения (например, с помощью ИФА) иммунологически значимых цитокинов в плазме или сыворотке; определить уровни окрашивания для маркеров активации циркулирующих иммунных клеток (например, FACS)</p>

### Дизайн исследования

Данное исследование представляет собой многоцентровое открытое исследование фазы Ib для обеспечения характеристики безопасности, переносимости, фармакокинетики (ФК), фармакодинамики (ФД) и противоопухолевой активности ADC в комбинации с гемцитабином или 5-фторурацилом у пациентов с заболеванием А, заболеванием В и заболеванием С.

Исследование состоит из части повышения дозы, за которой следует часть использования ранее установленной максимальной переносимой дозы в расширенной популяции.

Повышение дозы начинается со сниженных начальных доз (по сравнению с их соответствующими рекомендуемыми уровнями фазы 2 или лицензированными дозами) как для ADC, так и для гемцитабина или 5-фторурацила, чтобы гарантировать безопасность пациента. Начальные дозы будут составлять 33% (или 50%) от RDE для каждого соединения. Впоследствии дозы гемцитабина или 5-фторурацила будут сначала увеличиваться до тех пор, пока не будет достигнута RDE или лицензированная доза, или, при необходимости, более низкая доза по причинам переносимости. Затем доза ADC будет увеличиваться до тех пор, пока не будет достигнута RDE для комбинированного лечения. Это показано на диаграмме ниже:



	100%) и, следовательно, предполагается, что оно будет быстро получено пациентами испытания путем увеличения дозы этого соединения сначала.
--	--

Если определено, что комбинация доз является безопасной, ее можно протестировать на дополнительных пациентах, чтобы подтвердить безопасность и переносимость на этом уровне дозы. Может быть проведен дальнейший подбор дозы каждого соединения и/или схема может быть изменена.

Повышение дозы комбинации будет определяться байесовской моделью логистической регрессии (BLRM - Bayesian Logistic Regression Model), основанной на любых дозолIMITИРУЮЩИХ токсичностях (ДЛТ), наблюдаемых в первом (или первых двух, ТВС) циклах терапии. Использование BLRM представляет собой хорошо зарекомендовавший себя способ оценки максимально переносимой дозы (МПД)/рекомендуемой дозы для расширения (RDE) у онкологических больных. Адаптивная BLRM будет руководствоваться принципом увеличения с контролем передозировки (EWOC) для контроля риска ДЛТ у будущих пациентов, участвующих в исследовании. Использование адаптивных моделей байесовского ответа для небольших наборов данных было одобрено FDA и EMEA («Руководство по клиническим испытаниям в небольших популяциях», 1 февраля 2007 г.) и подтверждено многочисленными публикациями (Babb et al. 1998, Neuenschwander et al. 2008).

Решения о новых комбинациях доз принимаются исследователями и персоналом исследования со стороны спонсора в сигнале безопасности при повышении дозы (DESC - dose escalation safety call) на основе анализа информации о переносимости и безопасности у пациента (включая краткое изложение BLRM риска ДЛТ, если это применимо) вместе с ФК, ФД и предварительной информацией, доступной в момент принятия решения.

После определения МПД (максимально переносимая доза)/RDE для комбинации может быть начата расширенная часть исследования для дальнейшей оценки безопасности, переносимости и предварительной эффективности.

- Для комбинаций с ИО изменения иммунного инфильтрата в опухолях также будут охарактеризованы после комбинированного лечения по показаниям целевого заболевания.

Учитывая имеющийся предыдущий клинический опыт использования агентов в этом исследовании, ожидается, что в большинстве случаев комбинированная доза может быть определена без тестирования большого количества уровней доз или графиков. Для оценки фармакодинамической активности комбинаций пациентов попросят пройти биопсию опухоли на исходном уровне и снова после примерно двух циклов терапии.

- Для ИО комбинации: степень изменений в опухолевой инфильтрации иммунных клеток, в том числе лимфоцитов и макрофагов будет способствовать решению о любой потенциальной выгоде.

#### Часть повышения дозы

Во время части исследования с повышением дозы пациенты будут получать лечение фиксированной дозой ADC, вводимой внутривенно, и повышающимися дозами гемцитабина или 5-фторурацила до достижения RDE для гемцитабина или 5-фторурацила. Впоследствии дозы ADC увеличиваются (в разных группах), тогда как доза гемцитабина или 5-фторурацила остается постоянной.

От двух до около 3-4 пациентов с заболеванием А, заболеванием В или заболеванием С будут получать лечение в каждой когорте с повышением дозы до тех пор, пока не будет определено МПД/RDE.

Перед включением второго пациента в группу с Дозой 1 необходимо провести 24-часовое наблюдение. Период наблюдения ДЛТ на каждом уровне дозы составляет либо 1 цикл (3 недели), либо 2 цикла (6 недель), как предписано соответствующими регуляторами для терапии ИО, после чего будет определено, следует ли повышать дозу до следующего уровня, оставаться на текущем уровне дозы или снижать до предыдущего уровня дозы для следующей когорты. Снижение с уровня Дозы 1 не будет. Повышение дозы у одного и того же пациента не допускается.

Повышение дозы не допускается, если от 2 или более пациентов не имеется полной информации о ДЛТ в течение первого цикла при любом заданном уровне дозы.

Повышение дозы будет определяться с использованием mCRM с целевой частотой ДЛТ 30% и интервалом эквивалентности от 20% до 35%, а также с повышением дозы с контролем передозировки (EWOC - escalation-with-overdose-control) и без пропуска дозы.

Пациенты будут распределены в когорту, которая активно набирается. Повышение дозы будет выполняться в каждой комбинации после завершения одного цикла лечения. Оценки безопасности, включая нежелательные явления (НЯ) и лабораторные показатели, будут тщательно контролироваться для всех включенных пациентов, чтобы идентифицировать любые ДЛТ. Будет определено единое отношение МПД/RDE; МПД/RDE для конкретного заболевания не устанавливается.

mCRM будет внедрен для DE (увеличения дозы) под надзором Руководящего комитета по увеличению дозы (DESC - Dose Escalation Steering Committee). DESC будет подтверждать каждый увеличивающийся уровень дозы после просмотра всех доступных данных по безопасности. Данные ФК от пациентов с таким уровнем дозы и предыдущими уровнями доз также могут использоваться для принятия решения. DESC может останавливать повышение дозы до определения МПД на основе возникающих данных ФК, ФД, токсичности или ответа.

Дополнительные пациенты могут быть включены в любой уровень дозы для дальнейшей оценки безопасности и переносимости, если по крайней мере 1 пациент в исследовании достиг частичного ответа или лучше, или если DESC считает необходимым дальнейшую оценку данных ФК или ФД для определения RDE.

Повышение дозы будет остановлено после того, как 3 группы (или не менее 6 пациентов) будут последовательно назначены на один и тот же уровень дозы. Если МПД не достигается, будет определена рекомендуемая доза для расширения (RDE). Перед определением МПД/RDE минимум 6 пациентов должны пройти курс лечения этой комбинацией.

Предполагается, что парные биопсии опухоли будут взяты у пациентов во время повышения дозы. Анализ этих биопсий будет способствовать лучшему пониманию взаимосвязи между дозой и фармакодинамической активностью комбинации.

Надзор за безопасностью, осуществляемый Руководящим комитетом по повышению дозы DESC, состоящий из ADC Therapeutics и исследователей, будет постоянно анализировать безопасность пациентов в течение DE, чтобы определить, оправдывает ли график повышения дозы, предписанный mCRM, изменения. Помимо наблюдений за

безопасностью, данные ФК и/или ФД также могут использоваться для принятия решений. Промежуточные дозы могут быть назначены после согласования между ADC Therapeutics и исследователями. DESC может продолжать осуществлять надзор во время Части 2. Официальный совет по контролю за безопасностью данных (DSMB) использоваться не будет.

#### Часть использования ранее установленной максимальной переносимой дозы в расширенной популяции

После объявления МПД/RDE можно начинать часть использования ранее установленной максимальной переносимой дозы в расширенной популяции. Основная цель части использования ранее установленной максимальной переносимой дозы в расширенной популяции является дальнейшая оценка безопасности и переносимости исследуемого лечения в МПД/RDE и получение предварительного понимания эффективности комбинации по сравнению с историческими данными об эффективности одного агента.

Важной целью исследования является оценка изменений уровня иммунного инфильтрата опухоли в ответ на лечение. Это будет оцениваться в парных биопсиях опухолей, собранных у пациентов, с минимум десятью анализируемыми парами биопсии (образцы биопсии должны содержать достаточное количество опухоли для анализа) у пациентов, проходящих лечение в МПД/RDE. Если это невозможно, сбор этих биопсий может быть остановлен. Планируется, что в каждой исследовательской группе будет проходить лечение как минимум от 10 до 20 пациентов.

Откроется несколько разных исследовательских отделов, по одному на каждое заболевание. Всего при использовании ранее установленной максимальной переносимой дозы в расширенной популяции можно запустить девять исследовательских групп. Если набор в какую-либо из этих групп невозможен, то набор в эту группу может быть закрыт до того, как будет достигнута цель от 10 до 20 пациентов.

В каждой группе лечения будет разрешено лечение максимум около шести пациентов, которые получали лечение и, у которых наблюдалось прогрессирование заболевания на предшествующем однократном введении (т.е. не в комбинации) терапии гемцитабином или 5-фторурацилом. Это число может быть увеличено, если комбинация обещает преодолеть резистентность к предыдущему лечению однократным введением гемцитабина или 5-фторурацила.

### Популяция пациентов

Будет проведено исследование у взрослых пациентов с прогрессирующим заболеванием А, заболеванием В или заболеванием С, как описано выше. Исследователь или назначенное лицо должны обеспечить, чтобы лечение в исследовании предлагалось только пациентам, которые соответствуют всем следующим критериям включения и ни одному из критериев исключения.

### Критерии включения

Пациенты, подходящие для включения в это исследование, должны соответствовать всем следующим критериям:

1. Письменное информированное согласие должно быть получено до начала любых процедур.
2. Возраст 18 лет.
3. Пациенты с распространенным/метастатическим раком, с поддающимся измерению заболеванием, как определено в RECIST версии 1.1, у которых заболеванием прогрессирует, несмотря на стандартную терапию, или, которые, не переносят стандартную терапию, или для которых стандартной терапии не существует.

Пациенты должны входить в одну из следующих групп:

- Заболевание А
  - Заболевание В
  - Заболевание С
4. Статус производительности ECOG 0 - 1 (или 2 TBC)
  5. TBC: Пациент должен иметь место заболевания, поддающееся биопсии, и быть кандидатом на биопсию опухоли в соответствии с рекомендациями лечебного учреждения. Пациент должен быть готов пройти новую биопсию опухоли на исходном уровне и еще раз во время терапии в этом исследовании.
  6. Допускается предварительная терапия гемцитабином или 5-фторурацилом или родственными соединениями (то есть такими же MOA).

### Критерий невключения

Пациенты, подходящие для этого исследования, не должны соответствовать ни одному из следующих критериев:

1. История тяжелых реакций гиперчувствительности к другим mAb (ИЛИ к mAb с тем же остовом, что и в ADC, ИЛИ к тому же mAb ИО, если применимо)
2. Известная история положительных сывороточных АЛСА человека к каркасу mAb как в ADC

3. Только заболевание центральной нервной системы (ЦНС) (если применимо)
4. Симптоматические метастазы в ЦНС или признаки лептоменингеальной болезни (МРТ головного мозга или ранее задокументированная цитология спинномозговой жидкости (ЦСЖ))
  - Ранее пролеченные бессимптомные метастазы в ЦНС разрешены при условии, что последнее лечение (системная противоопухолевая терапия и/или местная лучевая терапия) было завершено  $\geq 8$  недель до 1<sup>го</sup> дня дозирования, за исключением того, что допускается использование низких доз стероидов в дополнение)
  - Подходят пациенты с дискретными метастазами в твердой мозговой оболочке.
5. Пациент, имеющий лабораторные показатели, выходящие за пределы допустимого диапазона, определенные как:
  - Уровень креатинина сыворотки  $\leq 1,5$  x ULN (верхняя граница нормы). Если уровень креатинина сыворотки  $> 1,5$ , клиренс креатинина (рассчитанный по формуле Кокрофта-Голта или измеренный) должен быть  $> 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, чтобы пациент имел право на участие в исследовании.
  - Уровень общего билирубина  $> 1,5$  x ULN, за исключением пациентов с синдромом Жильбера, которые исключаются, если уровень общего билирубина  $> 3,0$  x ULN или уровень прямого билирубина  $> 1,5$  x ULN
  - Уровень аланинаминотрансферазы (АЛТ)  $> 3$  x ULN, за исключением пациентов с опухолевым поражением печени, которые исключаются, если уровень АЛТ  $> 5$  x ULN
  - Уровень аспартатаминотрансферазы (АСТ)  $> 3$  x ULN, за исключением пациентов с опухолевым поражением печени, которые исключаются, если уровень АСТ  $> 5$  x ULN
  - Абсолютное количество нейтрофилов  $< 1,0 \times 10^9$ /л
  - Количество тромбоцитов  $< 75 \times 10^9$ /л
  - Уровень гемоглобина (Hgb)  $< 8$  г/дл
  - Калий, магний, кальций или фосфатная аномалия  $>$  СТСАЕ степени 1, несмотря на соответствующую заместительную терапию
6. Нарушение сердечной функции или клинически значимое сердечное заболевание, включая любое из следующего:
  - Клинически значимое и/или неконтролируемое заболевание сердца, такое как застойная сердечная недостаточность, требующая лечения (степень III или IV по NYHA), или неконтролируемая гипертензия, определяемая систолическим артериальным давлением (САД) 160 мм рт.ст. и/или диастолическим

артериальным давлением (ДАД) 100 мм рт. с антигипертензивными лекарственными средствами или без них.

- QTcF > 470 мсек для женщин или > 450 мсек для мужчин на скрининговой ЭКГ с коррекцией Фридерисии, врожденный синдром удлиненного интервала QT
  - Острый инфаркт миокарда или нестабильная стенокардия < 3 месяцев (месяцев до включения в исследование)
  - Клинически значимое заболевание клапанов сердца с документально подтвержденным нарушением сердечной функции
  - Симптоматический перикардит
  - История или текущая документально подтвержденная кардиомиопатия
  - Фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ) < 40%, как определено с помощью эхокардиограммы (ЕЧО) или радиоизотопной вентрикулографии (MUGA)
  - Наличие в анамнезе или наличие любых клинически значимых сердечных аритмий, например желудочковых, наджелудочковых, узловых аритмий или нарушений проводимости (квалификатор ТВС:... требуется кардиостимулятор или не контролируется лекарственными средствами)
  - Наличие нестабильной фибрилляции предсердий (частота желудочкового ответа > 100 ударов в минуту).
    - ПРИМЕЧАНИЕ: Пациенты со стабильной фибрилляцией предсердий могут быть включены в исследование при условии, что они не соответствуют другим критериям исключения со стороны заболеваний сердца.
  - Полная блокада левой ножки пучка Гиса (БПНПГ), двухпучковая блокада
  - Любые клинически значимые отклонения сегмента ST и/или зубца T.
7. Токсичность, связанная с предшествующей ИО терапией, которая привела к прекращению терапии. Не исключаются адекватно пролеченные пациенты с лекарственной сыпью на коже или с заместительной терапией при эндокринопатиях, при условии, что эти токсические эффекты не привели к прекращению предшествующего лечения.
8. Пациенты с активным, известным или подозреваемым аутоиммунным заболеванием. Субъекты с витилиго, сахарным диабетом I типа, остаточным гипотиреозом из-за аутоиммунного состояния, требующего только заместительную гормональную терапию, псориазом, не требующим системного лечения, или состояниями, для которых не ожидаются повторения в отсутствие внешнего триггера, разрешены к включению при условии, что триггера можно избежать.

9. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) или активная инфекция вируса гепатита В (ВГВ) или гепатита С (ВГС)
  - Тестирование не является обязательным для участия. Следует рассмотреть возможность тестирования на ВГС, если у пациента есть риск недиагностированного ВГС (например, употребление инъекционных наркотиков в анамнезе).
10. Злокачественные заболевания, не относящиеся к лечению в данном исследовании. Исключения из этого исключения включают следующее: злокачественные новообразования, которые лечились до излечения и не рецидивировали в течение 2 лет до исследуемого лечения; полностью резецированный базально-клеточный и плоскоклеточный рак кожи; любое злокачественное новообразование, считающееся неактивным и никогда не требующее лечения; и полностью резецированная карцинома *in situ* любого типа.
11. Системная противораковая терапия в течение 2 недель после первой дозы исследуемого лекарственного средства. Для цитотоксических агентов, которые обладают большой отсроченной токсичностью, например, митомицина С и нитрозомочевины, период вымывания составляет 4 недели. Для пациентов, получающих противоопухолевую иммунотерапию, такую как антагонисты CTLA-4, период вымывания составляет 6 недель.
12. Активная диарея CTCAE степени 2 или заболевание, связанное с хронической диареей (например, синдром раздраженного кишечника, воспалительное заболевание кишечника)
13. Наличие 2: Токсичность CTCAE 2 степени (за исключением алопеции, периферической нейропатии и ототоксичности, которые исключаются, если  $> =$  CTCAE степени 3) вследствие предшествующей терапии рака.
14. Активная инфекция, требующая системной антибактериальной терапии.
15. Активное изъязвление верхних отделов желудочно-кишечного тракта или желудочно-кишечное кровотечение
16. Активный кровоточащий диатез или прием пероральных лекарственных средств против витамина К (за исключением низких доз варфарина и аспирина или эквивалента, если  $INR \leq 2,0$ )
17. Активное аутоиммунное заболевание, моторная нейропатия, имеющая аутоиммунное происхождение, и другие аутоиммунные заболевания ЦНС
18. Пациенты, которым требуются сопутствующие иммунодепрессанты или хроническое лечение кортикоидами, за исключением:
  - заместительная доза стероидов при надпочечниковой недостаточности
  - разрешены местные, ингаляционные, назальные и офтальмологические

стероиды

19. Использование любых живых вакцин против инфекционных заболеваний (например, гриппа, ветряной оспы, пневмококка) в течение 4 недель после начала исследуемого лечения (примечание: использование живых вакцин не допускается на протяжении всего периода исследования)
20. Использование гемопоэтических колониестимулирующих факторов роста (например, G-CSF, GM-CSF, M-CSF) < 2 недель до начала приема исследуемого лекарственного средства. Эритроидстимулирующее средство разрешено, если оно было начато по крайней мере за 2 недели до первой дозы исследуемого лекарственного средства.
21. Серьезное хирургическое вмешательство в течение 2 недель после введения первой дозы исследуемого лекарственного средства (NB медиастиноскопия, введение устройства для доступа к центральным венам или введение зонда для питания не считаются серьезной операцией).
22. Лучевая терапия в течение 2 недель после первой дозы исследуемого лекарственного средства, за исключением паллиативной лучевой терапии в ограниченном поле, например, для лечения боли в костях или очагового болезненного образования опухоли. Чтобы можно было оценить реакцию на лечение, пациенты должны иметь измеримое заболевание, которое не было облучено.
23. Участие в интервенционном исследовании в течение 2 недель после первой дозы исследуемого лекарственного средства.
24. Любое заболевание, которое, по мнению исследователя, может помешать участию пациента в клиническом исследовании из-за соображений безопасности, соблюдения процедур клинического исследования или интерпретации результатов исследования.
25. Сексуально активные мужчины, за исключением случаев, когда они используют презерватив во время полового акта во время приема лекарственного средства и в течение 90 дней после прекращения исследуемого лечения, и не должны иметь ребенка в этот период. Презервативы также должны использоваться мужчинами, подвергшимися вазэктомии, чтобы предотвратить доставку лекарственного средства через семенную жидкость.
26. Беременные или кормящие женщины, у которых беременность определяется как состояние женщины после зачатия и до прерывания беременности, подтвержденное положительным лабораторным тестом на ХГЧ. В редких случаях секреторно активной опухоли органа эндокринной системы, уровень ХГЧ может быть выше нормы, но при отсутствии беременности у пациента. В этих случаях

следует провести повторный анализ ХГЧ в сыворотке (без приведения результата) и УЗИ влагалища/таза, чтобы исключить беременность. После подтверждения результатов и обсуждения с медицинским представителем эти пациенты могут участвовать в исследовании.

27. Женщины детородного возраста, определяемые как все женщины, физиологически способные забеременеть, за исключением случаев, когда они использовали высокоэффективные способы контрацепции во время исследуемого лечения и в течение 90 дней после приема последней любой дозы исследуемого лекарственного средства. К высокоэффективным способам контрацепции относятся:

- Полное воздержание (когда это соответствует предпочтительному и обычному образу жизни пациента. Периодическое воздержание (например, календарное, овуляционное, симптотермальное, постовуляционное) и отмена не являются приемлемыми способами контрацепции.
- Женская стерилизация (наличие хирургической билатеральной овариэктомии с гистерэктомией или без), общая гистерэктомия или связывание маточных труб за не менее чем 6 недель, перед приемом лекарственного средства исследования. В случае только овариэктомии, только если репродуктивный статус женщины подтвержден последующей оценкой уровня гормонов.
- Стерилизация мужчин (минимум за 6 месяцев до обследования). Для пациентов, участвовавших в исследовании, партнер-мужчина, подвергшийся вазэктомии, должен быть единственным партнером этого пациента.
- Использование оральных (эстроген и прогестерон), вводимых или имплантированных гормональных способов контрацепции или размещение внутриматочных устройств (ВМС) или внутриматочной системы (ИУС) или других форм гормональной контрацепции, которые имеют сравнимую эффективность (частота отказов <1% ), например, гормональное вагинальное кольцо или трансдермальная гормональная контрацепция.
  - В случае использования оральных контрацептивов женщины должны быть стабильно на одной и той же таблетке в течение как минимум 3 месяцев до начала приема исследуемого лекарственного средства.
  - Женщины считаются постменопаузальными и не находящиеся в детородном возрасте, если у них в течение 12 месяцев была естественная (спонтанная) аменорея с соответствующим клиническим профилем (например, в соответствии с возрастом, анамнезом вазомоторных симптомов) или если они перенесли двустороннюю хирургическую овариэктомию (с гистерэктомией или без нее) или перевязку маточных труб не менее 6 недель назад. В случае

только овариэктомии, только если репродуктивный статус женщины подтвержден последующей оценкой уровня гормонов, она считается не способной к деторождению.

### Токсичность, ограничивающая дозу и принципы модификации доз

Токсичность, ограничивающая дозу (ДЛТ) определяется как любое из следующих событий, которые считаются, по крайней мере, возможно, связаны с АСД по суждению исследователя, что происходит в течение 21-дневного периода оценки ДЛТ. Токсичность, ясно и непосредственно связана с основным заболеванием или другой этиологией исключается из этого определения.

### Определения ДЛТ

**Гематологическая ДЛТ** определяется как:

- Фебрильная нейтропения или нейтропеническая инфекция 3 или 4 степени
- Нейтропения 4 степени продолжительностью > 7 дней
- Тромбоцитопения 4 степени
- Тромбоцитопения 3 степени с клинически значимым кровотечением или тромбоцитопения 3 степени, требующая переливания тромбоцитов
- Анемия 3 степени, требующая переливания
- Анемия 4 степени

**Негематологическая ДЛТ** определяется как:

- Негематологическая токсичность 4 степени
- Негематологическая токсичность 3 степени, длящаяся > 3 дней, несмотря на оптимальную поддерживающую терапию или медицинское вмешательство
- Случай закона Хай (уровень АСТ и/или АЛТ > 3x ULN и уровень билирубина > 2x ULN, и без первоначальных данных о холестазе (активность щелочной фосфатазы в сыворотке (ЩФ) < 2x ULN) и никакой другой причины, которая могла бы объяснить комбинацию повышенных уровней трансаминаз и общего билирубина в сыворотке, такая как вирусный гепатит А, В или С, ранее существовавшее или острое заболевание печени, или другое лекарство, способное вызвать наблюдаемое повреждение)
- Гиперчувствительность 3 степени и выше/реакция, связанная с инфузией (независимо от премедикации). Гиперчувствительность 3 степени/реакция, связанная с инфузией, которая проходит в течение 8 часов после начала при соответствующем клиническом лечении, не квалифицируется как ДЛТ.
- Снижение ФВЛЖ до < 40% или > 20% от исходного уровня
- Синдром лизиса опухоли 4 степени (СЛО 3 степени не будет считаться ДЛТ, если

только он не приведет к необратимому повреждению целевого органа)

Следующие состояния не считаются негематологическими ДЛТ:

- Усталость 3 степени в течение  $\leq 7$  дней
- Диарея, тошнота или рвота 3 степени в отсутствие премедикации, которая реагирует на терапию и улучшается как минимум на 1 степень в течение 3 дней для явлений 3 степени или до  $\leq 1$  степени в течение 7 дней.
- Повышение уровня АСТ или АЛТ  $\geq 5 \times \text{ULN}$ , но  $\leq 8 \times \text{ULN}$ , без одновременного повышения уровня билирубина, которое понижается до  $\leq 2$  степени в течение 5 дней после начала.
- Липаза сыворотки или амилаза сыворотки 3 степени в течение  $\leq 7$  дней при отсутствии клинических признаков или симптомов панкреатита

Пациенты, у которых наблюдается ДЛТ, которая разрешается или стабилизируется при соответствующем медицинском лечении, могут продолжать лечение по *усмотрению* исследователя после консультации со спонсором.

#### Модификации дозы

Рекомендации по управлению специфической токсичностью подробно описаны в таблице ниже. Для управления событиями, не указанными в таблицах, следующие рекомендации могут служить руководством для исследователей:

Оценка НЯ	Руководство по управлению ADC
1	Коррекции дозы не требуется.
2	<p><u>Первое появление:</u></p> <p>Рассмотрите возможность остановки приема одного или обоих лекарственных средств до улучшения до <math>\leq 1</math> степени или до исходного уровня. До улучшения состояния можно пропустить до 1 дозы одного или обоих лекарственных средств. Если улучшение до <math>\leq 1</math> степени или до исходного уровня наступает в течение 21 дня после последней запланированной (но пропущенной) дозы одного или обоих лекарственных средств, продолжайте прием одного или обоих лекарственных средств на уровне исходной назначенной дозы в последующих циклах лечения.</p> <p>Если улучшение до <math>\leq 1</math> степени или до исходное уровня не наступает в течение 21 дня после последней запланированной (но пропущенной) дозы, окончательно прекратите прием одного или обоих лекарственных средств.</p> <p><u>Второе появление:</u></p> <p>Остановите прием одного или обоих лекарственных средств до улучшения до <math>\leq 1</math> степени или до исходного уровня. До улучшения состояния можно пропустить до 1 дозы одного или обоих лекарственных средств. Если улучшение до <math>\leq 1</math> степени или до исходного уровня наступает в течение 21 дня после последней запланированной (но пропущенной) дозы, продолжайте прием одного или обоих лекарственных средств на уровне 1 дозы ниже исходной назначенной дозы в последующих циклах лечения. Если улучшение до <math>\leq 1</math> степени или до исходное уровня не наступает в течение 21 дня после последней запланированной (но пропущенной) дозы, окончательно прекратите прием одного или обоих лекарственных средств.</p> <p><u>Третье появление:</u></p> <p>Окончательно прекратите прием одного или обоих лекарственных средств.</p>
3	<p><u>Первое появление:</u></p> <p>Остановите прием одного или обоих лекарственных средств до улучшения до <math>\leq 1</math> степени или до исходного уровня. До улучшения</p>

	<p>состояния можно пропустить до 1 дозы одного или обоих лекарственных средств, затем продолжить прием на уровне 1 дозы ниже исходной назначенной дозы в последующих циклах лечения.</p> <p><u>Второе появление:</u> Окончательно прекратите прием одного или обоих лекарственных средств</p>
<b>4</b>	Окончательно прекратите прием одного или обоих лекарственных средств.

#### Пример 4

*Исследование эффективности in vivo комбинации sur301 с гемцитабином в сингенной модели CT26. Самки мышей BALB/c (BALB/cNCrI, Charles River) были в возрасте 10 недель в 1 день исследования и имели диапазон массы тела (BW) от 17,2 до 22,0 грамм.*

В день имплантации культивированные клетки CT26 собирали во время экспоненциальной фазы роста и ресуспендировали в ФСБ в концентрации  $3 \times 10^6$  клеток/мл. Опухоли инициировали путем подкожной имплантации  $3 \times 10^5$  клеток CT26 (0,1 мл суспензии) в правый бок каждого испытуемого животного. Опухоли контролировали по мере приближения их объемов к целевому диапазону 80–120 мм<sup>3</sup>. Опухоль измеряли в двух измерениях с помощью штангенциркуля, а объем рассчитывали по формуле:

$$\text{Объем опухоли (мм}^3\text{)} = w \times l / 2$$

где  $w$  = ширина и  $l$  = длина опухоли в мм. Массу опухоли можно оценить, исходя из предположения, что 1 мг эквивалентен 1 мм<sup>3</sup> объема опухоли.

Через пятнадцать дней после имплантации опухолевых клеток, в первый день исследования, животных разделяли на группы ( $n = 10$ /группу) с индивидуальным объемом опухоли от 75 до 144 мм<sup>3</sup> и средним групповым объемом опухоли 104-106 мм<sup>3</sup>.

Все дозы вводились внутривенно (в/в). Дозируемый объем составлял 0,2 мл на 20 граммов массы тела (10 мл/кг) и был масштабирован по массе тела каждого отдельного животного.

Гемцитабин вводили в дозе 80 мг/кг каждые 3 дня x 4 раза, что соответствовало 1, 4, 7 и 10 дням.

Компонент антитела ADCx25 специфически связывает CD25 человека. Соответственно, ADCx25 нельзя использовать в исследованиях in vivo на мышах, где мыши экспрессируют свой собственный CD25 мыши. Соответственно, был создан эквивалентный ADC, который можно использовать в исследованиях in vivo на мышах. В Arce Vargas et al., 2017, Immunity 46, 1–10, April 18, 2017 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2017.03.013>) была описана усиленная Fc версия PC61, крысиного антитела к CD25 мыши. PC61 дикого типа конъюгировали с PBD димером лекарственное средство-линкер SG3249 (PBD лекарственное средство-линкер, используемый в ADCx25/ADCT-301/ Camidanlumab

Tesirine) и обозначали как суррогатный-ADCx25 (также называемый SurADCx25 или sADCx25). sADCx25 вводили в виде монотерапии в виде однократной дозы в 1 день исследования. В группах комбинации с гемцитабином sADCx25 вводили на 5 день.

Опухоли измеряли с помощью штангенциркуля два раза в неделю, и каждое животное подвергали эвтаназии, когда его опухоль достигала конечного объема 2000 мм<sup>3</sup> или в конце исследования (день 56), в зависимости от того, что наступило раньше.

Результаты представлены на Фиг. 2А, 2В и 2С, где каждый набор осей показывает данные от одной группы из 10 животных (показаны данные каждого отдельного животного).

#### Частота ответа

Краткое описание ответа	PR	CR	TFS
Наполнитель	0	0	0
sADCx25, 0,1 мг/кг	0	0	0
sADCx25, 0,5 мг/кг	0	1	0
sADCx25, 1 мг/кг	0	1	1
Гемцитабин	0	0	0
sADCx25, 0,1 мг/кг + гемцитабин	0	0	0
sADCx25, 0,5 мг/кг + гемцитабин	0	2	2
sADCx25, 1 мг/кг + гемцитабин	0	1	1

Таблица критериев ответов:

- Лечение может вызвать частичную регрессию (PR) или полную регрессию (CR) опухоли у животного.

- В ответе PR объем опухоли составляет 50% или менее от ее объема в 1 день для трех последовательных измерений в ходе исследования и равен или более 13,5 мм<sup>3</sup> для одного или более из этих трех измерений.
- В ответе CR объем опухоли составляет менее 13,5 мм<sup>3</sup> для трех последовательных измерений во время исследования.
- Любое животное с ответом CR в конце исследования дополнительно классифицировалось как выжившее без развития опухоли (TFS).
- Животных оценивали только один раз во время исследования на предмет явления PR или CR и на CR, только если были удовлетворены как критерии PR, так и CR.

### Расчет CDI (коэффициента лекарственного взаимодействия)

#### Методология

- Коэффициент лекарственного взаимодействия (CDI) в СТ26-e570 оценивали на предмет субаддитивных, аддитивных или супрааддитивных (синергетических) свойств на 18-й день, в последний день во всех оцениваемых животных оставшихся в исследовании (показано пунктирной вертикальной линией на каждом из графиков на Фиг. 2А-2С).
- CDI определяли в соответствии с уравнением ниже:
- $CDI = AB/AxB$
- где,
- $x$  = средний объем опухоли
- $AB = x_{AB}/x_C$
- $A = x_A/x_C$
- $B = x_B/x_C$
- $CDI < 1$  является супрааддитивным (синергизм);  $CDI = 1$  является аддитивным;  $CDI > 1$  является субаддитивным

#### Группы

- (1) только гемцитабин // только sADC25 0,1 мг/кг // гемцитабин + sADC25 0,1 мг/кг  
→  $CDI = 0,68$
- (2) только гемцитабин // только sADC25 0,5 мг/кг // гемцитабин + sADC25 0,5 мг/кг  
→  $CDI = 1,1$
- (3) только гемцитабин // только sADC25 1 мг/кг // гемцитабин + sADC25 1 мг/кг

→ CDI = 1,33

Примечание

На синергизм между sADCx25 и гемцитабином указывает CDI <1 при использовании низкой концентрации (0,1 мг/кг) sADCx25.

Относительно высокая эффективность sADCx25 в качестве единственного агента при более высоких концентрациях 0,5 и 1 мг/кг означает, что в этом конкретном анализе CDI синергизм обнаружить труднее.

Однако данные по частоте ответа ясно показывают повышенную эффективность комбинированного введения sADCx25 и гемцитабина: в качестве отдельных агентов sADCx25 0,5 мг/кг, sADCx25 1 мг/кг и гемцитабин в совокупности привели к 1 животному выжившему без развития опухоли, тогда как sADCx25 0,5 мг/кг и 1 мг/кг sADCx25, вводимые в комбинации с гемцитабином, в совокупности привели к 3 животным выжившим без развития опухолей.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества ADCX25 или ADCT-301 и гемцитабина.
2. Первая композиция, содержащая ADCX25 или ADCT-301, для применения в способе лечения рака у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей гемцитабин.
3. Первая композиция, содержащая гемцитабин, для применения в способе лечения расстройства у индивидуума, в котором лечение включает введение первой композиции в комбинации со второй композицией, содержащей ADCX25 или ADCT-301.
4. Применение ADCX25 или ADCT-301 при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, в котором лекарственное средство содержит ADCX25 или ADCT-301, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей гемцитабин.
5. Применение антагониста гемцитабина при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума, в котором лекарственное средство включает гемцитабин, и в котором лечение включает введение лекарственного средства в комбинации с композицией, содержащей ADCX25 или ADCT-301.
6. Набор, содержащий:  
первое лекарственное средство, содержащее ADCX25 или ADCT-301;  
второе лекарственное средство, содержащее гемцитабин; и, необязательно,  
листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению первого лекарственного средства индивидууму в комбинации со вторым лекарственным средством для лечения рака.
7. Набор, содержащий лекарственное средство, содержащее ADCX25 или ADCT-301, и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей гемцитабин, для лечения рака.
8. Набор, содержащий лекарственное средство, содержащее гемцитабин, и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению лекарственного средства индивидууму в комбинации с композицией, содержащей ADCX25 или ADCT-301, для лечения рака.

9. Фармацевтическая композиция, содержащая ADCX25 или ADCT-301 и гемцитабин.
10. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции по п. 9.
11. Композиция по п. 9 для применения в способе лечения рака у индивидуума.
12. Применение композиции по п. 9, при производстве лекарственного средства для лечения рака у индивидуума.
13. Набор, содержащий композицию по п. 9 и набор инструкций по введению лекарственного средства индивидууму для лечения рака.
14. Композиция, способ, применение или набор по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что лечение включает введение ADCX25 или ADCT-301 до гемцитабина, одновременно с гемцитабином или после гемцитабина.
15. Композиция, способ, применение или набор по любому из предшествующих пунктов, в которых лечение дополнительно включает введение химиотерапевтического средства.
16. Композиция, способ, применение или набор по любому из предшествующих пунктов, в которых индивидуум является человеком.
17. Композиция, способ, применение или набор по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак.
18. Композиция, способ, применение или набор по любому из предшествующих пунктов, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, характеризующийся наличием новообразования, содержащего как CD25-положительные, так и CD25-отрицательные клетки.
19. Композиция, способ, использование или набор по любому из предшествующих пунктов, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак,

характеризующийся наличием новообразования, содержащего или состоящего из неопластических CD25-отрицательных клеток.

20. Композиция, способ, использование или набор по любому из предшествующих пунктов, в которых что рак или новообразование представляет собой всю или часть солидной опухоли.

21. Композиция, способ, использование или набор по любому из предшествующих пунктов, в которых индивидуум имеет или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует CD25 или CD25+ ассоциированные с опухолью неопухолевые клетки, такие как CD25+ инфильтрирующие Т-клетки.

22. Композиция, способ, использование или набор по любому из предшествующих пунктов, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, который проявляет низкий уровень поверхностной экспрессии CD25.

23. Композиция, способ, использование или набор по любому из предшествующих пунктов, в которых индивидуум имеет рак или было определено, что он имеет рак, который экспрессирует второй целевой белок.

24. Композиция, способ, использование или набор по любому из предшествующих пунктов, в которых лечение:

- а) эффективно лечит более широкий спектр расстройств,
  - б) эффективно лечит резистентные, рефрактерные или рецидивирующие расстройства,
  - с) имеет повышенную частоту ответа и/или
  - д) обладает повышенной продолжительностью наблюдаемого эффекта;
- по сравнению с лечением только ADCX25, ADCT-301 или гемцитабином.

25. Композиция, способ, использование или набор по любому из предшествующих пунктов, в которых рак выбран из группы, включающей:

лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (БЛКМЗ);

лейкозы, такие как волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), вариантная форма волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ-В), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), острый

лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), такой как положительный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph+ОЛЛ) или отрицательный по филадельфийской хромосоме ОЛЛ (Ph-ОЛЛ);

рак поджелудочной железы, рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка и пищевода, лейкоз и лимфому, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточную карциному, и рак головы и шеи.

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ****SEQ ID NO. 1 (AB12 VH):**

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYIINWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGVEN  
YAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKDWFYWGQGTLVTVSSAS  
TKGPSVFPLA

**SEQ ID NO. 2 (AB12 VL):**

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD  
RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP

**SEQ ID NO. 3 (VH CDR1):**

RYIIN

**SEQ ID NO. 4 (VH CDR2):**

RIIPILGVENYAQKFQG

**SEQ ID NO. 5 (VH CDR3):**

KDWFYD

**SEQ ID NO. 6 (VL CDR1):**

RASQSVSSYLA

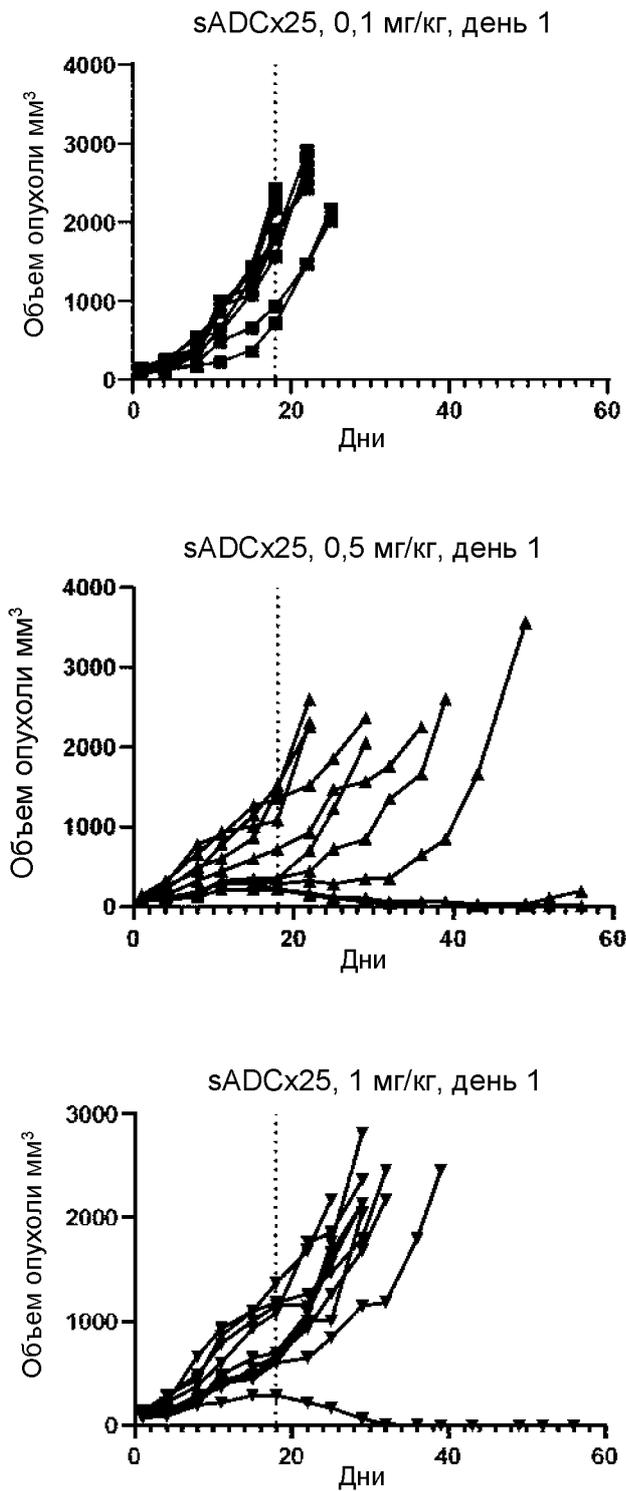
**SEQ ID NO. 7 (VL CDR2):**

GASSRAT

**SEQ ID NO. 8 (VL CDR3):**

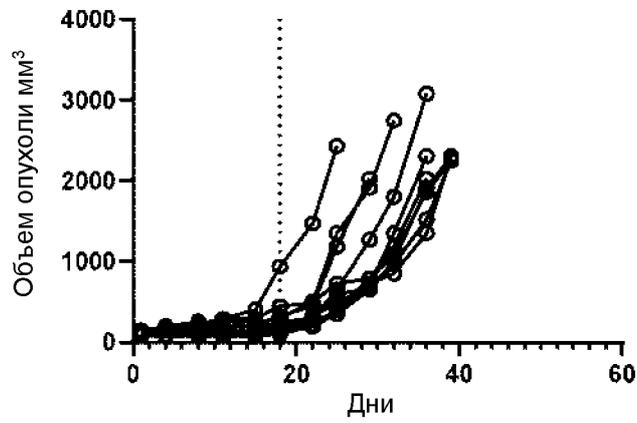
QQYGSSPLT

Фиг. 1

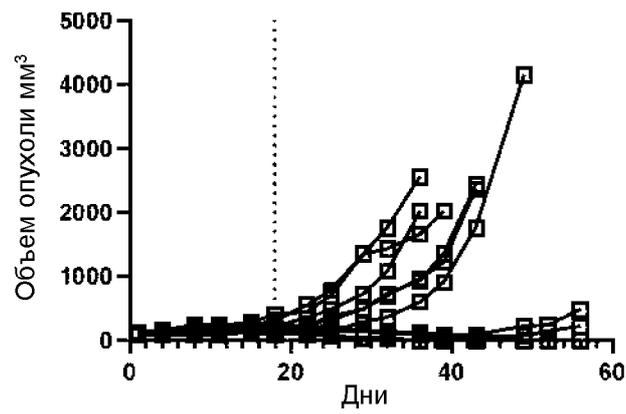


Фиг. 2А

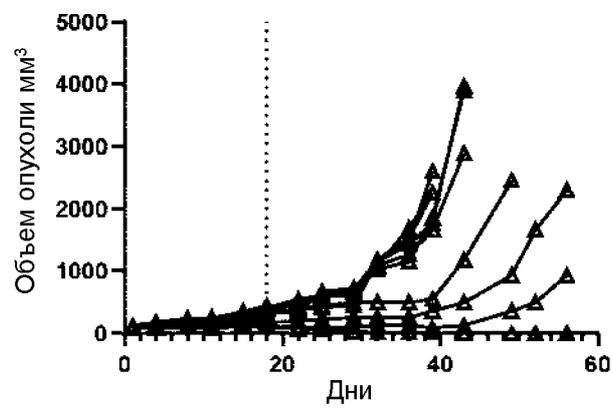
Гемцитабин+ sADCx25, 0,1 мг/кг, день 5



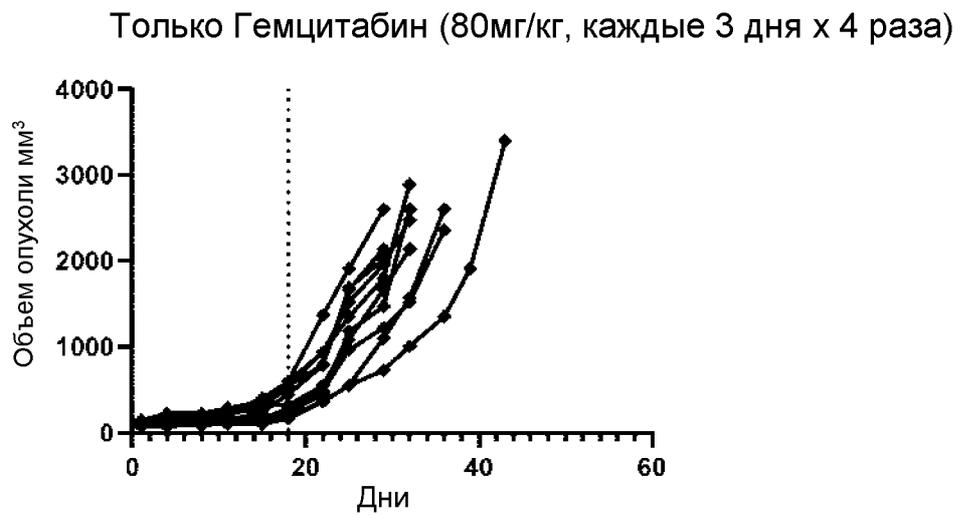
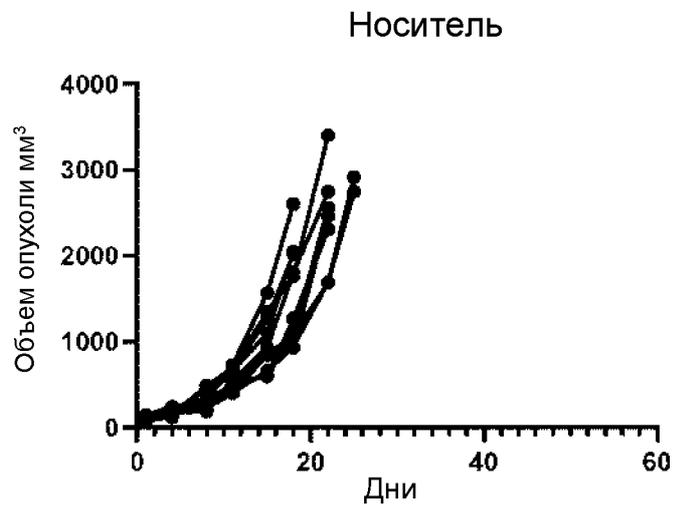
Гемцитабин+ sADCx25, 0,5 мг/кг, день 5



Гемцитабин+ sADCx25, 1 мг/кг, день 5



Фиг. 2В



Фиг. 2С