

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202291161 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2022.08.16(22) Дата подачи заявки  
2020.11.04(51) Int. Cl. A61P 35/00 (2006.01)  
A61P 35/02 (2006.01)  
C07K 16/46 (2006.01)  
C07K 16/28 (2006.01)

## (54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ АНТИТЕЛАМИ К ВСМА И CD3

(31) 19207293.2; 20179573.9

(32) 2019.11.05; 2020.06.11

(33) EP

(86) PCT/US2020/058939

(87) WO 2021/092056 2021.05.14

(71) Заявитель:  
БРИСТОЛ-МАЙЕРЗ СКВИББ  
КОМПАНИ (US)

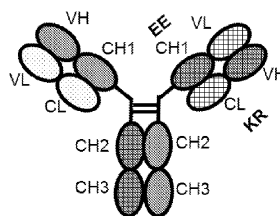
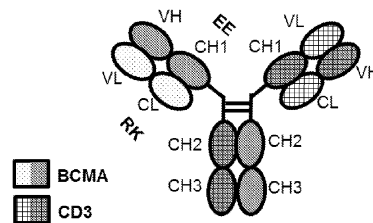
(72) Изобретатель:

Бёрджесс Майкл, Хеге Кристен, Датта  
Каушик, Босс Айзек (US), Ву Мин  
Диэм (CN)

(74) Представитель:

Поликарпов А.В., Соколова М.В.,  
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев  
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,  
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) Изобретение относится к способам лечения пациента, страдающего расстройством, ассоциированным с экспрессией ВСМА (В-клеточного антигена созревания) (например, ВСМА-экспрессирующих В-клеточных злокачественных заболеваний, таких как множественная миелома), с использованием режимов с повышением доз мультиспецифических (например, биспецифических) антител, связывающихся с CD3 и ВСМА.



A1

202291161

202291161

A1

## **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ АНТИТЕЛАМИ К ВСМА И CD3**

### **ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

Для данной заявки заявлен приоритет европейской заявки № 19207293.2, поданной 5 ноября 2019 г. и европейской заявки № 20179573.9, поданной 11 июня 2020 г., содержание каждой из которых во всей полноте включено в настоящий документ посредством ссылки.

### **ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПРЕДСТАВЛЕННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ**

Данная заявка включает ссылку на Перечень последовательностей, представленный вместе с данной заявкой в виде текстового файла под названием "14247-608-228\_Sequence\_Listing.TXT", созданный 4 ноября 2020 года и имеющий размер 68 146 байт.

### **ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Настоящее изобретение относится к антителам к ВСМА (В-клеточный антиген созревания) и CD3 для применения в лечении расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА (например ВСМА-экспрессирующих В-клеточных злокачественных заболеваний, таких как множественная миелома).

### **ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

Известны мультиспецифические (например биспецифические) антитела к ВСМА и CD3, и продемонстрирована их значительная терапевтическая эффективность. Однако эти антитела могут быть связаны с нежелательными явлениями, прежде всего синдромом выброса цитокинов (CRS). Таким образом, существует потребность в режиме дозирования, при котором достигается благоприятный профиль «польза — риск».

### **КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Настоящее изобретение относится к способам лечения пациента, страдающего расстройством, ассоциированным с экспрессией ВСМА (например ВСМА-экспрессирующими В-клеточными злокачественными заболеваниями, такими как множественная миелома), с использованием режимов с увеличением доз

мультиспецифических (например биспецифических) антител, связывающихся с CD3 и ВСМА. Такой режим дозирования значительно снижает токсичность за счет ослабления выброса цитокинов.

Таким образом, в одном аспекте в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА (например ВСМА-экспрессирующих В-клеточных злокачественных заболеваний, таких как множественная миелома) у пациента (например человека), где лечение включает введение мультиспецифического (например биспецифического) антитела, связывающегося с ВСМА и CD3, в режиме дозирования, включающем:

(1) начальную фазу, когда пациенту вводят одну или более начальных доз мультиспецифического (например биспецифического) антитела; и

(2) поддерживающую фазу, когда пациенту вводят первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела, после чего возможно вводят по меньшей мере одну дополнительную поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела;

причем каждая поддерживающая доза выше чем одна или более начальных доз.

В другом аспекте в настоящем изобретении предложено мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело, связывающееся с ВСМА и CD3, для применения в лечении расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА (например ВСМА-экспрессирующих В-клеточных злокачественных заболеваний, таких как множественная миелома) у пациента (например человека), где лечение включает введение мультиспецифического (например биспецифического) антитела в режиме дозирования, включающем:

(1) начальную фазу, когда пациенту вводят одну или более начальных доз мультиспецифического (например биспецифического) антитела; и

(2) поддерживающую фазу, когда пациенту вводят первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела, после чего возможно вводят по меньшей мере одну дополнительную поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела;

причем каждая поддерживающая доза выше чем одна или более начальных доз.

В некоторых воплощениях одна или более начальных доз содержит фиксированную дозу от примерно 1,5 мг до 4,5 мг; от примерно 2 мг до 4 мг; от примерно

2,5 мг до 3,5 мг, например примерно 3 мг. В предпочтительном воплощении одна или более начальных доз включает одну фиксированную дозу от примерно 1,5 мг до 4,5 мг; от примерно 2 мг до 4 мг; от примерно 2,5 мг до 3,5 мг, например примерно 3 мг.

В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу можно вводить в виде фиксированной дозы от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 6 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг.

В некоторых воплощениях по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза является такой же, как первая поддерживающая доза. В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу можно вводить в виде фиксированной дозы от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 6 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой (например одну) фиксированную дозу примерно 3 мг, и каждая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг.

В некоторых воплощениях по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза превышает первую поддерживающую дозу. В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу можно вводить в виде фиксированной дозы от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 6 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг, и по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг. Таким образом, в некоторых воплощениях, начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 3 мг, первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг, и по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу примерно 10 мг.

В некоторых воплощениях одна или более начальных доз содержит фиксированную дозу от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 7 мг; от примерно 6,5 мг до 7,5 мг, например примерно 6 мг. В некоторых воплощениях одна или более начальных доз включает однократную фиксированную дозу от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 7 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг.

В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу можно вводить в виде

фиксированной дозы от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг.

В некоторых воплощениях по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза является такой же, как первая поддерживающая доза. В некоторых воплощениях поддерживающую дозу можно вводить в виде фиксированной дозы от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг, и каждая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу примерно 10 мг.

В некоторых воплощениях по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза превышает первую поддерживающую дозу. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг, первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу примерно 10 мг и по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу, превышающую примерно 10 мг.

В некоторых воплощениях у пациента развилось, или он подвержен риску развития нежелательного явления, связанного с введением мультиспецифического (например биспецифического) антитела, и при этом лечение дополнительно включает введение:

а) стероида, например кортикостероида;

б) антагониста рецептора цитокина или цитокина, выбранного из GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора), IL-10 (интерлейкина-10), IL-10R, IL-6, рецептора IL-6 (IL-6R), IFN $\gamma$  (интерферона-гамма), IFNGR (рецептора интерферона-гамма), IL-2, IL-2R/CD25, MCP-1 (моноцитарного хемотаксического белка 1), CCR2 (хемокинового рецептора 2), CCR4 (хемокинового рецептора 4), MIP1 $\beta$ , CCR5 (хемокинового рецептора 5), TNF-альфа, TNFR1, IL-1 и IL-1-R-альфа/IL-1-бета, где антагонист выбран из антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, малой молекулы, белка или пептида и нуклеиновой кислоты;

в) молекулы, которая уменьшает популяцию регуляторных Т-клеток (Treg), например циклофосфамида;

- г) жаропонижающего, болеутоляющего средства и/или антибиотиков; и/или
- д) средства для профилактики судорог, например леветирацетама.

В некоторых воплощениях кортикостероид представляет собой дексаметазон или метилпреднизолон. В некоторых воплощениях антагонист представляет собой тоцилизумаб и/или силтуксимаб.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело вводят внутривенно или подкожно. В предпочтительных воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело вводят внутривенно.

В некоторых воплощениях расстройство, ассоциированное с экспрессией ВСМА, представляет собой ВСМА-экспрессирующее В-клеточное злокачественное заболевание, такое как множественная миелома. В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело вводят пациенту в виде монотерапии. В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело вводят пациенту в виде комбинированной терапии с одним или более дополнительными терапевтическими агентами. В некоторых воплощениях один или более дополнительных терапевтических агентов выбраны из группы, состоящей из талидомида и его иммунотерапевтического производного, антитела к CD38, антитела к PD-1 (белок 1 запрограммированной гибели клеток), антитела к PD-L1 (лиганд 1 белка запрограммированной гибели клеток), ингибитора гамма-секретазы (GSI), конъюгата анти-ВСМА антитела с лекарственным средством и анти-ВСМА CAR T-клеточной терапии.

В некоторых воплощениях «субъект» или «пациент» представляет собой человека.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий область CDR3H с SEQ ID NO:17 и область CDR3L с SEQ ID NO:20 и комбинацию областей CDR1H, CDR2H, CDR1L и CDR2L, выбранную из группы:

- а) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:23 и область CDR2L с SEQ ID NO:24,
- б) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:25 и область CDR2L с SEQ ID NO:26,
- в) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область

CDR1L с SEQ ID NO:27 и область CDR2L с SEQ ID NO:28,

г) область CDR1H с SEQ ID NO:29 и область CDR2H с SEQ ID NO:30, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32,

д) область CDR1H с SEQ ID NO:34 и область CDR2H с SEQ ID NO:35, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32,

е) область CDR1H с SEQ ID NO:36 и область CDR2H с SEQ ID NO:37, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32, и

ж) область CDR1H с SEQ ID NO:15 и область CDR2H с SEQ ID NO:16, область CDR1L с SEQ ID NO:18 и область CDR2L с SEQ ID NO:19.

В некоторых воплощениях антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH и VL, выбранные из группы, состоящей из:

а) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:12,

б) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:13,

в) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14,

г) область VH с SEQ ID NO:38 и область VL с SEQ ID NO:12,

д) область VH с SEQ ID NO:39 и область VL с SEQ ID NO:12,

е) область VH с SEQ ID NO:40 и область VL с SEQ ID NO:12, или

ж) область VH с SEQ ID NO:9 и область VL с SEQ ID NO:11.

В особенно предпочтительных воплощениях антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент содержит область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO: 14.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменную область VH, содержащую CDR тяжелой цепи с SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, CDR1H, CDR2H и CDR3H тяжелой цепи и переменный домен VL, содержащий CDR легкой цепи с SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, CDR1L, CDR2L и CDR3L легкой цепи. В некоторых воплощениях антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит область VH с SEQ ID NO:7 и область VL с SEQ ID NO: 8.

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO: 14, и

антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH с SEQ ID NO:7 и область VL с SEQ ID NO: 8.

В некоторых воплощениях изобретения мультиспецифическое антитело представляет собой биспецифическое антитело. В некоторых воплощениях биспецифическое антитело является бивалентным (формат 1+1). В некоторых воплощениях бивалентное биспецифическое антитело имеет формат: CD3 Fab – BCMA Fab (т. е. когда Fc отсутствует). Альтернативно, бивалентное биспецифическое антитело может иметь формат: Fc – CD3 Fab – BCMA Fab; Fc – BCMA Fab – CD3 Fab или BCMA Fab – Fc – CD3 Fab (т. е. когда Fc присутствует). В предпочтительных воплощениях бивалентное биспецифическое антитело имеет формат BCMA Fab – Fc – CD3 Fab. В некоторых воплощениях биспецифическое антитело является трехвалентным (формат 2+1). В некоторых воплощениях трехвалентное биспецифическое антитело имеет формат: CD3 Fab – BCMA Fab – BCMA Fab; или BCMA Fab – CD3 Fab – BCMA Fab (т. е. когда Fc отсутствует). Альтернативно трехвалентное биспецифическое антитело может иметь формат: BCMA Fab – Fc – CD3 Fab – BCMA Fab; BCMA Fab – Fc – BCMA Fab – CD3 Fab; или CD3 Fab – Fc – BCMA Fab – BCMA Fab (т. е. когда Fc присутствует). В предпочтительных воплощениях трехвалентное биспецифическое антитело имеет формат BCMA Fab – Fc – CD3 Fab - BCMA Fab.

В некоторых воплощениях Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1.

В некоторых воплощениях домен CH1 Fab-фрагмента антитела к BCMA содержит аминокислотные модификации K147E/D и K213E/D (нумерация в соответствии с системой нумерации EU), и соответствующая легкая цепь иммуноглобулина содержит домен CL, имеющий аминокислотные модификации E123K/R/H и Q124K/R/H (нумерация согласно Kabat).

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело дополнительно содержит Fc. В некоторых воплощениях Fc представляет собой IgG1 Fc. В некоторых воплощениях (например IgG1) Fc содержит первую цепь Fc,



содержащую первые константные домены CH2 и CH3, и вторую цепь Fc, содержащую вторые константные домены CH2 и CH3, и где:

- а) первый домен CH3 содержит модификации T366S, L368A и Y407V или их консервативные замены (нумерация в соответствии с системой нумерации EU); и
- б) второй домен CH3 содержит модификации T366W или их консервативные замены (нумерация в соответствии с системой нумерации EU).

В некоторых воплощениях (например IgG1) Fc содержит:

- а) модификации L234A, L235A и P329G (нумерация в соответствии с системой нумерации EU); и/или
- б) модификации D356E и L358M (нумерация в соответствии с системой нумерации EU).

В дополнительных воплощениях биспецифическое антитело в соответствии с изобретением содержит следующие SEQ ID NO:

1. 83A10-TCB<sub>cv</sub>: 45, 46, 47 (x2), 48 (Фиг. 2A)
2. 21-TCB<sub>cv</sub>: 48, 49, 50, 51 (x2) (Фиг. 2A)
3. 22-TCB<sub>cv</sub>: 48, 52, 53, 54 (x2) (Фиг. 2A)
4. 42-TCB<sub>cv</sub>: 48, 55, 56, 57 (x2) (Фиг. 2A)

В предпочтительном воплощении биспецифическое антитело в соответствии с изобретением представляет собой 42-TCB<sub>cv</sub>.

Аспекты и воплощения изобретения представлены в прилагаемой формуле изобретения. Эти и другие аспекты и воплощения изобретения также описаны в настоящем документе.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Далее настоящее изобретение будет более подробно описано со ссылкой на прилагаемые графические материалы, в которых:

На Фиг. 1 проиллюстрированы разные форматы биспецифических бивалентных антител для применения в настоящем изобретении, которые содержат Fab-фрагменты, связывающиеся с CD3 и BCMA, в формате Fab BCMA – Fc – Fab CD3. CD3 Fab может включать кроссинговер VH–VL для уменьшения ошибок спаривания легких цепей и побочных продуктов. Аминокислотные замены RK/EE могут быть введены в CL-CH1, чтобы уменьшить ошибки спаривание легких цепей/побочные продукты при получении. CD3 Fab и BCMA Fab могут быть связаны друг с другом гибкими линкерами.

На Фиг. 2 проиллюстрированы разные форматы биспецифических трехвалентных антител для применения в настоящем изобретении, которые содержат Fab-фрагменты, связывающиеся с CD3 и ВСМА, в следующих форматах: Fab ВСМА – Fc – Fab CD3 – Fab ВСМА (А, В); Fab ВСМА – Fc – Fab ВСМА – Fab CD3 (С, D). CD3 Fab может включать кроссинговер VH–VL для уменьшения ошибки спаривания легких цепей и побочных продуктов. Аминокислотные замены RK/EE могут быть введены в CL-CH1, чтобы уменьшить ошибки спаривания легких цепей/побочные продукты при получении. CD3 Fab и ВСМА Fab могут быть связаны друг с другом гибкими линкерами.

На Фиг. 3 проиллюстрированы разные форматы биспецифических трехвалентных антител для применения в настоящем изобретении, которые содержат Fab-фрагменты, связывающиеся с CD3 и ВСМА, в следующих форматах: Fc – Fab CD3 – Fab ВСМА (А, В); Fc – Fab ВСМА – Fab CD3 (С, D). CD3 Fab может включать кроссинговер VH–VL для уменьшения ошибки спаривания легких цепей и побочных продуктов. Аминокислотные замены RK/EE могут быть введены в CL-CH1, чтобы уменьшить ошибки спаривания легких цепей/побочные продукты при получении. CD3 Fab и ВСМА Fab могут быть связаны друг с другом гибкими линкерами.

На Фиг. 4 проиллюстрированы события синдрома выброса цитокинов у всех участников клинического исследования СС-93269 при рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломе (RRMM) из примеров 1 и 2. C1D1 = 1-е сутки 1-го цикла; C1D8 = 8-е сутки 1-го цикла; C1D15 = 15-е сутки 1-го цикла; C1D22 = 22-е сутки 1-го цикла; C2D1 = 1-е сутки 2-го цикла; C5D1 = 1-е сутки 5-го цикла; CRS = синдром выброса цитокинов; NE = не поддается оценке; PD = прогрессирующее заболевание; PR = частичный ответ; sCR = строгий полный ответ; SD = стабильное заболевание; VGRP = очень хороший частичный ответ. Предварительные данные от 11 октября 2019.

На Фиг. 5 проиллюстрирована частота возникновения событий синдрома выброса цитокинов у всех участников клинического исследования СС-93269 при рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломе (RRMM) из примеров 1 и 2.

На Фиг. 6 проиллюстрировано влияние дексаметазона на индуцированную СС-93269 секрецию цитокинов, как описано в примере 3. Цитокины (пг/мл) представлены на графике в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение трех параллельных образцов. H929, MM1S, KMS12-PE и SKMM2 представляют собой ВСМА-экспрессирующие клеточные линии миеломы. Dex = дексаметазон.

На Фиг. 7 проиллюстрировано влияние дексаметазона на индуцированный СС-93269 лизис ВСМА-экспрессирующих клеточных линий миеломы (H929, MM.1S, KMS12-PE и SKMM2), как описано в примере 3. Проценты живых опухолевых клеток представлены на графике в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение трех параллельных образцов. Dex = дексаметазон.

На Фиг. 8 проиллюстрировано влияние дексаметазона на индуцированную СС-93269 пролиферацию и активацию Т-клеток, как описано в примере 3. Пролиферацию измеряют в виде процентной доли  $CD4^+/CD8^+$  Т-клеток, которые показывают разведение CellTrace Violet после совместного культивирования с опухолевыми клеточными линиями по сравнению с культурами одних Т-клеток. Экспрессию маркеров активации CD25, CD69 и HLA-DR на  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-клетках измеряют в виде процента  $CD4^+/CD8^+$  Т-клеток, экспрессирующих маркеры активации после совместного культивирования с опухолевыми клеточными линиями по сравнению с культурами одних Т-клеток. Как пролиферация, так и экспрессия маркеров активации представлены на графике в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение трех параллельных образцов. SKMM2 представляет собой ВСМА-экспрессирующую клеточную линию миеломы. Dex = дексаметазон.

### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

При использовании в настоящем документе форма единственного числа может относиться к одному или более чем одному (например к по меньшей мере одному) указанному грамматическому объекту.

«Примерно» может в общем случае означать приемлемую степень ошибки для количества, измеренного с учетом характера или точности измерений. Примерные степени ошибки находятся в пределах 20 процентов (%), как правило, в пределах 10% и более характерно в пределах 5% от данного значения или диапазона значений.

Воплощения, описанные в настоящем документе как «содержащие» один или более признаков, можно также рассматривать как раскрытие соответствующих воплощений, «состоящих из» и/или «состоящих по существу из» таких признаков.

Концентрации, количества, объемы, проценты и другие числовые значения могут быть представлены в настоящем документе в формате диапазона. Также следует понимать, что такой формат диапазона использован исключительно для удобства и краткости и должен быть интерпретирован гибко, включая не только числовые значения,

явным образом указанные как пределы диапазона, но также включая все отдельные числовые значения или поддиапазоны, охватываемые этим диапазоном, как если бы каждое числовое значение и поддиапазон были указаны явным образом.

### Терапевтические способы

Настоящее изобретение отчасти основано на способах лечения пациента, страдающего расстройством, ассоциированным с экспрессией ВСМА (например ВСМА-экспрессирующих В-клеточных злокачественных заболеваний, таких как множественная миелома), с использованием режимов с увеличением дозы мультиспецифических (например биспецифических) антител, связывающихся с CD3 и ВСМА. Ожидается, что эти способы уменьшат или ингибируют нежелательные эффекты лечения, такие как синдром выброса цитокинов (CRS), и тем самым лечение пациента достигает более благоприятного профиля «польза — риск». В некоторых воплощениях «субъект» или «пациент» представляет собой человека.

При использовании в настоящем документе «расстройство, ассоциированное с экспрессией ВСМА», представляет собой расстройство плазматических клеток или В-клеточное расстройство, которое коррелирует с усиленной экспрессией ВСМА. Расстройства плазматических клеток включают ВСМА-экспрессирующее В-клеточное злокачественное заболевание, плазмоцитому, плазмноклеточный лейкоз, множественную миелому, макроглобулинемию, амилоидоз, макроглобулинемию Вальденстрёма, солитарную плазмоцитому кости, экстрамедуллярную плазмоцитому, остеосклеротическую миелому (POEMS-синдром) и болезни тяжелых цепей, а также моноклональную гаммапатию неясного генеза неопределенного значения/вялотекущую множественную миелому.

В некоторых воплощениях В-клеточное расстройство представляет собой ВСМА-экспрессирующее В-клеточное злокачественное заболевание, такое как множественная миелома. Множественная миелома представляет собой злокачественное заболевание плазматических клеток, характеризующееся моноклональной экспансией и накоплением аномальных плазматических клеток в компартменте костного мозга. В развитие множественной миеломы также вовлечены циркулирующие клональные плазматические клетки с такой же перестройкой генов IgG и соматической гипермутацией. Множественная миелома возникает из бессимптомного предзлокачественного

состояния, называемого моноклональной гаммапатией неопределенного значения (MGUS), характеризующейся низкими уровнями плазматических клеток костного мозга и моноклонального белка. Клетки множественной миеломы пролиферируют с низкой скоростью. Множественная миелома является результатом прогрессирующего появления множественных структурных изменений хромосом (например несбалансированных транслокаций). В развитие множественной миеломы вовлечено взаимное влияние злокачественных плазматических клеток и микроокружения костного мозга (например нормальных стромальных клеток костного мозга). Клинические проявления активной множественной миеломы включают вспышку образования моноклональных антител, переполнение костного мозга плазматическими клетками, литические поражения костей и деструкцию кости в результате избыточной стимуляции остеокластов (Dimopoulos & Terpos, Ann Oncol 2010; 21 suppl 7: vii143–150).

Используемые в настоящем документе термины «лечение», «лечащий» и подобные относятся к получению желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Предпочтительно эффект является терапевтическим, т. е. этот эффект приводит к частичному или полному излечению заболевания и/или нежелательного симптома, свойственного этому заболеванию. Альтернативно, фармакологический и/или физиологический эффект может быть профилактическим, т. е. эффект полностью или частично предупреждает заболевание или его симптом.

Таким образом, в одном аспекте в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА (например ВСМА-экспрессирующих В-клеточных злокачественных заболеваний, таких как множественная миелома) у пациента (например человека), где лечение включает введение мультиспецифического (например биспецифического) антитела, связывающегося с ВСМА и CD3, в режиме дозирования, включающем:

(1) начальную фазу, когда пациенту вводят одну или более начальных доз мультиспецифического (например биспецифического) антитела; и

(2) поддерживающую фазу, когда пациенту вводят первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела, после чего возможно вводят по меньшей мере одну дополнительную поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела;

причем каждая поддерживающая доза выше чем одна или более начальных доз.

В другом аспекте в настоящем изобретении предложено мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело, связывающееся с ВСМА и CD3, для применения в лечении расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА (например ВСМА-экспрессирующих В-клеточных злокачественных заболеваний, таких как множественная миелома) у пациента (например человека), где лечение включает введение мультиспецифического (например биспецифического) антитела в режиме дозирования, включающем:

(1) начальную фазу, когда пациенту вводят одну или более начальных доз мультиспецифического (например биспецифического) антитела; и

(2) поддерживающую фазу, когда пациенту вводят первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела, после чего возможно вводят по меньшей мере одну дополнительную поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела;

причем каждая поддерживающая доза выше чем одна или более начальных доз.

Введение начальной дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела значительно снижает токсичность в связи с ослаблением высвобождения цитокинов.

В некоторых воплощениях начальная фаза включает однократную фиксированную дозу. В некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой однократную фиксированную дозу от примерно 1,5 мг до 4,5 мг; от примерно 2 мг до 4 мг; от примерно 2,5 мг до 3,5 мг, например примерно 3 мг. В некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой однократную фиксированную дозу от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 6 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг.

В других воплощениях начальная фаза включает две или более начальных доз одинаковой концентрации. В воплощениях, в которых начальные дозы вводят в виде двух или более доз одинаковой концентрации, начальную дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе от примерно 1,5 мг до 4,5 мг; от примерно 2 мг до 4 мг; от примерно 2,5 мг до 3,5 мг, например примерно 3 мг. Альтернативно, начальную дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе от

примерно 1,5 мг до 4,5 мг; от примерно 2 мг до 4 мг; от примерно 2,5 мг до 3,5 мг, например примерно 6 мг.

Если у пациента развивается нежелательное явление (например CRS или инфекция) после введения начальной дозы (например первой начальной дозы) мультиспецифического (например биспецифического) антитела, следующую начальную дозу (например вторую начальную дозу) можно вводить пациенту вплоть до 12 недель после начальной дозы, которая вызвала нежелательное явление. В некоторых воплощениях следующую начальную дозу можно вводить вплоть до 10 недель после, вплоть до 8 недель после, вплоть до 6 недель после, вплоть до 4 недель после, вплоть до двух недель после, например вплоть до одной недели после начальной дозы, которая вызвала нежелательное явление. В некоторых воплощениях последующая начальная доза может быть такой же концентрации или более низкой концентрации, чем начальная доза, которая вызвала нежелательное явление.

Если у пациента развивается нежелательное явление (например CRS или инфекция) после введения последней начальной дозы начальной фазы, начальная фаза может включать в себя дополнительную начальную дозу, которую вводят пациенту вплоть до 12 недель после начальной дозы, которая вызвала нежелательное явление. В некоторых воплощениях дополнительную начальную дозу можно вводить вплоть до 10 недель после, вплоть до 8 недель после, вплоть до 6 недель после, вплоть до 4 недель после, вплоть до двух недель после, например вплоть до одной недели после начальной дозы, которая вызвала нежелательное явление. В некоторых воплощениях дополнительная начальная доза может быть такой же концентрации или более низкой концентрации, чем начальная доза, которая вызвала нежелательное явление.

В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в виде фиксированной дозы от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 6 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 3 мг, и первая поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг.

В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу

мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в виде фиксированной дозы от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 6 мг, и первая поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу примерно 10 мг.

В некоторых воплощениях поддерживающая фаза включает две или более поддерживающих дозы одинаковой концентрации или возрастающей концентрации.

В некоторых воплощениях поддерживающая фаза включает две или более поддерживающих доз от примерно 4,5 мг до примерно 25 мг, предпочтительно от примерно 4,5 мг до примерно 11,5 мг. В некоторых воплощениях поддерживающая фаза включает две или более поддерживающих дозы от примерно 4,5 мг до примерно 7,5 мг; от примерно 5 мг до примерно 6 мг; от примерно 5,5 мг до примерно 6,5 мг, например примерно 6 мг. В некоторых воплощениях поддерживающая фаза включает две или более поддерживающих дозы от примерно 8,5 мг до примерно 11,5 мг; от примерно 9 мг до примерно 11 мг; от примерно 9,5 мг до примерно 10,5 мг, например примерно 10 мг. В некоторых воплощениях поддерживающая фаза включает две или более поддерживающих дозы от примерно 6 мг до примерно 11,5 мг, от примерно 6,5 мг до примерно 11 мг, от примерно 7 мг до примерно 10,5 мг, например от примерно 7,5 мг до примерно 10 мг, например примерно 10 мг. В некоторых воплощениях поддерживающая фаза включает две или более поддерживающих дозы от примерно 18,5 мг до 21,5 мг; от примерно 19 мг до 21 мг; от примерно 19,5 мг до 20,5 мг, например примерно 20 мг.

В воплощениях, в которых поддерживающие дозы вводят в виде двух или более доз одинаковой концентрации, поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в виде фиксированной дозы от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 6 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 3 мг, и поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг.



В воплощениях, в которых поддерживающие дозы вводят в виде двух или более доз одинаковой концентрации, поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в виде фиксированной дозы от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 6 мг, и поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу примерно 10 мг.

В некоторых воплощениях поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят в виде двух или более доз возрастающей концентрации (например увеличивающихся доз). В этом случае последующая доза может быть увеличена с конкретным приращением или с различными приращениями до достижения максимальной дозы, и в этот момент введение можно прекратить или продолжить в максимальной дозе. Таким образом, в воплощениях, в которых поддерживающие дозы вводят в возрастающих концентрациях, первая поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела выше начальной дозы, и следующие (например вторая, третья, четвертая или пятая) поддерживающие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела выше первой поддерживающей дозы. Например, первая поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела выше начальной дозы, вторая(ые) поддерживающая(ие) доза(ы) мультиспецифического (например биспецифического) антитела являет(ют)ся такой(ими) же, как первая поддерживающая доза, и третья (и возможно последующая) поддерживающая доза(ы) мультиспецифического (например биспецифического) антитела выше второй поддерживающей дозы.

В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 6 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг, и следующую (например вторую, третью, четвертую или пятую) поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе от примерно 8,5 мг

до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг.

В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг, и следующую (например вторую, третью, четвертую или пятую) поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе, превышающей первую поддерживающую дозу.

В некоторых воплощениях вторая поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела превышает первую поддерживающую дозу. В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 6 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг, и вторую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 3 мг, первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг, и вторая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу примерно 10 мг. В некоторых воплощениях следующая (например третья, четвертая или пятая) поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела может быть такой же или выше второй поддерживающей дозы.

В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг, и вторую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе, превышающей первую поддерживающую дозу. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 6 мг, первая поддерживающая доза представляет собой

фиксированную дозу примерно 10 мг, и вторая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу, превышающую первую поддерживающую дозу. В некоторых воплощениях последующая (например третья, четвертая или пятая) поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела может быть такой же или выше второй поддерживающей дозы.

В некоторых воплощениях поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят в двух концентрациях: первой концентрации и максимальной концентрации дозы. В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу можно вводить в фиксированной дозе от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 7 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг, и следующую (например вторую) поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в максимальной концентрации дозы. В некоторых воплощениях максимальная концентрация дозы представляет собой фиксированную дозу от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг. Так, в некоторых воплощениях начальная доза представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 3 мг, первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг и последующая (например вторая) поддерживающая доза представляет собой максимальную дозу, которая представляет собой фиксированную дозу примерно 10 мг. При одновременном введении максимальной поддерживающей дозы максимальная концентрация дозы может быть равна фиксированной дозе от примерно 18,5 мг до 21,5 мг; от примерно 19 мг до 21 мг; от примерно 19,5 мг до 20,5 мг, например примерно 20 мг.

В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу можно вводить в фиксированной дозе от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг, и следующую (например вторую) поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в максимальной концентрации дозы. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 6 мг, первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу примерно 10 мг, и последующая (например вторая) поддерживающая доза представляет собой максимальную дозу, превышающую первую

поддерживающую дозу.

В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят пациенту через 1–21 сутки, например 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 суток после начальной дозы. В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить пациенту через 2 суток после начальной дозы. В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить пациенту через 3 суток после начальной дозы. В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить пациенту через 7 суток после начальной дозы. В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить пациенту через 14 суток после начальной дозы.

В некоторых воплощениях вторую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят пациенту через 1–21 суток, например 2, 4, 7 или 14 суток после первой поддерживающей дозы. Таким образом, в воплощении, в котором первую поддерживающую дозу вводят через 2 суток после начальной дозы, вторую поддерживающую дозу можно вводить через 2 суток после первой поддерживающей дозы, и возможно третью поддерживающую дозу можно вводить через 3 суток после второй поддерживающей дозы.

В воплощениях, в которых первую поддерживающую дозу вводят через 3 суток после начальной дозы, вторую поддерживающую дозу можно вводить через 4 суток после первой поддерживающей дозы. В воплощениях, в которых первую поддерживающую дозу вводят через 7 суток после начальной дозы, вторую (и возможно следующую(ие)) поддерживающую(ие) дозу(ы) можно вводить через 7 суток после первой поддерживающей дозы. В воплощениях, в которых первую поддерживающую дозу вводят через 14 суток после начальной дозы, вторую (и возможно следующую(ие)) поддерживающую(ие) дозу(ы) можно вводить через 14 суток после первой поддерживающей дозы.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения, если у пациента развивается нежелательное явление (например CRS или инфекция) после введения поддерживающей дозы (например первой, второй, третьей или последующей

поддерживающей дозы) мультиспецифического (например биспецифического) антитела, следующую поддерживающую дозу можно вводить пациенту вплоть до 12 недель после поддерживающей дозы, которая вызвала нежелательное явление. В некоторых воплощениях следующую поддерживающую дозу можно вводить вплоть до 10 недель после, вплоть до 8 недель после, вплоть до 6 недель после, вплоть до 4 недель после, вплоть до двух недель после, например вплоть до одной недели после начальной дозы, которая вызвала нежелательное явление. В некоторых воплощениях следующая поддерживающая доза может быть такой же концентрации или более низкой концентрации, чем поддерживающая доза, которая вызвала нежелательное явление.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения третью и последующие поддерживающие дозы вводят с интервалом дозирования примерно один раз в неделю или более длительным интервалом. При использовании в настоящем документе «интервал дозирования» означает количество времени, которое проходит между введениями многократных доз пациенту. Если нежелательное явление (например CRS или инфекция) возникает после введения поддерживающей дозы (например третьей или последующей поддерживающей дозы) мультиспецифического (например биспецифического) антитела, интервал дозирования может быть изменен в день введения пациенту следующей поддерживающей дозы.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения интервал дозирования для третьей и последующих поддерживающих доз может составлять примерно один раз в неделю. При использовании в настоящем документе «недельный интервал дозирования» включает введение один раз в 5–9, 6–9, 7–9, 5–8, 5–7, 6–8, 6–7, 7–8, предпочтительно в 7 суток. В некоторых воплощениях интервал дозирования для третьей и последующих поддерживающих доз может составлять примерно один раз в две недели. При использовании в настоящем документе «двухнедельный интервал дозирования» включает введение один раз в 12–16, 13–16, 14–16, 12–15, 12–14, 13–15, 13–14, 14–15, предпочтительно в 14 суток. В некоторых воплощениях интервал дозирования для третьей и последующей поддерживающей дозы может составлять примерно один раз в три недели. При использовании в настоящем документе «трехнедельный интервал дозирования» включает введение один раз в 19–23, 20–23, 21–23, 19–22, 19–21, 20–22, 20–21, 21–22, предпочтительно в 21 сутки. В некоторых воплощениях интервал дозирования для третьей и последующей поддерживающей дозы

может составлять примерно один раз в четыре недели. При использовании в настоящем документе «четырёхнедельный интервал дозирования» включает введение один раз в 26–30, 27–30, 28–30, 26–29, 26–28, 27–29, 27–28, 28–29, предпочтительно в 28 суток. В некоторых воплощениях интервал дозирования для третьей и последующих поддерживающих доз может составлять примерно один раз в месяц.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения интервал дозирования для третьей и последующей поддерживающей дозы может представлять собой комбинацию одного или более из недельного интервала дозирования, двухнедельного интервала дозирования, трехнедельного интервала дозирования и четырехнедельного интервала дозирования. В некоторых воплощениях интервал дозирования для третьей и последующей поддерживающей дозы может представлять собой комбинацию недельного интервала дозирования, двухнедельного интервала дозирования и четырехнедельного интервала дозирования.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения третью и последующие поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например раз в 7 суток), затем с двухнедельным интервалом дозирования (например раз в 14 суток), затем с трехнедельным интервалом дозирования (например раз в 21 сутки), и затем с четырехнедельным интервалом дозирования (например раз в 28 суток). В некоторых воплощениях третью и последующие поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например раз в 7 суток), затем с двухнедельным интервалом дозирования (например раз в 14 суток), и затем с четырехнедельным интервалом дозирования (например раз в 28 суток).

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения лечение включает по меньшей мере один цикл лечения их 28 суток. При использовании в настоящем документе «цикл лечения» составляет 28 суток. Если начальную дозу вводят позже 28-го дня первого цикла лечения в результате нежелательного явления (например CRS или инфекции), то первый цикл лечения можно начать заново в день введения пациенту начальной дозы. Если поддерживающую дозу вводят позже 28-го дня текущего цикла лечения в результате нежелательного явления (например CRS или инфекции), следующий цикл лечения можно начать в день введения пациенту поддерживающей дозы. В некоторых воплощениях лечение включает первый цикл лечения, где начальную дозу вводят пациенту в виде фиксированной дозы в 1-е сутки, и поддерживающие дозы

затем вводят с недельным интервалом дозирования (например каждые 7 суток) в течение трех последовательных недель (например в 8, 15 и 22-е сутки). В последующих циклах лечения поддерживающие дозы можно продолжать вводить с недельным или более длительным интервалом дозирования.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения лечение включает второй цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например в 1, 8, 15 и 22-е сутки). В следующих воплощениях пациент остается на недельном интервале дозирования в течение 1–5, 1–3, 1–2, 2–3 следующих циклов лечения, предпочтительно 2 следующих циклов лечения (в дополнение к первому циклу лечения). В некоторых воплощениях лечение включает второй и третий цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например в 1, 8, 15 и 22-е сутки).

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения поддерживающие дозы можно вводить с двухнедельным интервалом дозирования в циклах лечения (например в 1 и 15-е сутки) после завершения недельного(ых) цикла(ов) лечения. В следующих воплощениях пациент остается на двухнедельном интервале дозирования в течение 1–5, 1–3, 1–2, 2–3 двухнедельных циклов лечения, предпочтительно 3 двухнедельных циклов лечения. В некоторых воплощениях лечение включает четвертый, пятый и шестой цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с двухнедельным интервалом дозирования (например в 1 и 15-е сутки).

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения поддерживающие дозы можно вводить с трехнедельным интервалом дозирования в последующих циклах лечения (например в последующих циклах следуют последовательности (а), (б) и (в), где поддерживающие дозы вводят в 1 и 22-е сутки цикла (а), в 15-е сутки цикла (б) и в 8-е сутки цикла (в)) после завершения двухнедельного(ых) цикла(ов) лечения. В следующих воплощениях пациент остается на трехнедельном интервале дозирования в течение 1, 2 или 3 циклов лечения.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения поддерживающие дозы можно вводить с четырехнедельным интервалом дозирования в последующих циклах лечения (например в 1-е сутки) после завершения двухнедельного(ых) цикла(ов) лечения. В альтернативных воплощениях поддерживающие дозы можно вводить с четырехнедельным интервалом дозирования в последующих циклах лечения (например

в 1-е сутки) после завершения трехнедельного(ых) цикла(ов) лечения. В следующих воплощениях пациент остается на четырехнедельном интервале дозирования в течение по меньшей мере одного цикла. Некоторые пациенты продолжают получать лечение в течение всей оставшейся жизни.

В некоторых воплощениях лечение включает:

(1) первый цикл лечения, где начальную дозу вводят в 1-е сутки и поддерживающие дозы вводят в 8, 15 и 22-е сутки;

(2) второй и третий цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например в 1, 8, 15 и 22-е сутки);

(3) четвертый–шестой цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с двухнедельным интервалом дозирования (например в 1 и 15-е сутки); и

(4) седьмой и последующий цикл, где поддерживающие дозы вводят с четырехнедельным интервалом дозирования (например в 1-е сутки)

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с режимом, представленным в таблице 1.

**Таблица 1**

<b>1-й цикл</b>	<b>2–3 циклы</b>	<b>4–6 циклы</b>	<b>7+ циклы</b>
Начальная доза в 1-е сутки	Поддерживающая доза в 1, 8, 15, 22-е сутки	Поддерживающая доза в 1, 15-е сутки	Поддерживающая доза в 1-е сутки
Поддерживающая доза в 8, 15, 22-е сутки			

В альтернативных воплощениях лечение включает первый цикл лечения, где начальную дозу вводят пациенту в виде фиксированной дозы в 1-е сутки, первую поддерживающую дозу вводят через 3 суток после начальной дозы (например на 4-е сутки), вторую поддерживающую дозу вводят через 4 суток после первой поддерживающей дозы (например на 8-е сутки) и третью и четвертую поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом (например в 15 и 22-е сутки). В последующих циклах лечения поддерживающие дозы можно продолжать вводить с недельным или более длительным интервалом дозирования.



В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения лечение включает второй цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например в 1, 8, 15 и 22-е сутки). В следующих воплощениях пациент остается на недельном интервале дозирования в течение 1–5, 1–3, 1–2, 2–3 следующих циклов лечения, предпочтительно 2 следующих циклов лечения (в дополнение к первому циклу лечения). В некоторых воплощениях лечение включает второй и третий цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например в 1, 8, 15 и 22-е сутки).

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения поддерживающие дозы можно вводить с двухнедельным интервалом дозирования в циклах лечения (например в 1 и 15-е сутки) после завершения недельного(ых) цикла(ов) лечения. В следующих воплощениях пациент остается на двухнедельном интервале дозирования в течение 1–5, 1–3, 1–2, 2–3 недельных циклов лечения, предпочтительно 3 двухнедельных циклов лечения. В некоторых воплощениях лечение включает четвертый, пятый и шестой цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с двухнедельным интервалом дозирования (например в 1 и 15-е сутки).

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения поддерживающие дозы можно вводить с четырехнедельным интервалом дозирования в последующих циклах лечения (например в 1-е сутки) после завершения двухнедельного(ых) цикла(ов) лечения. В следующих воплощениях пациент остается на четырехнедельном интервале дозирования в течение по меньшей мере одного цикла. Некоторые пациенты продолжают получать лечение в течение всей оставшейся жизни.

В некоторых воплощениях лечение включает:

- (1) первый цикл лечения, где начальную дозу вводят в 1-е сутки, и поддерживающие дозы вводят в 4, 8, 15 и 22-е сутки;
- (2) второй и третий цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например в 1, 8, 15 и 22-е сутки);
- (3) четвертый–шестой цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с двухнедельным интервалом дозирования (например в 1 и 15-е сутки); и
- (4) седьмой и последующий цикл, где поддерживающие дозы вводят с четырехнедельным интервалом дозирования (например в 1-е сутки).

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое)

антитело (например 42-ТСVcv) можно вводить пациенту в соответствии с режимом, представленным в таблице 2.

**Таблица 2**

1-й цикл	2–3 циклы	4–6 циклы	7+ циклы
Начальная доза в 1-е сутки Поддерживающая доза в 4, 8, 15, 22-е сутки	Поддерживающая доза в 1, 8, 15, 22-е сутки	Поддерживающая доза в 1, 15-е сутки	Поддерживающая доза в 1-е сутки

В альтернативных воплощениях лечение включает первый цикл лечения, где начальную дозу вводят пациенту в виде фиксированной дозы в 1-е сутки, первую поддерживающую дозу вводят через 2 суток после начальной дозы (например на 3-и сутки), вторую поддерживающую дозу вводят через 2 суток после первой поддерживающей дозы (например на 5-е сутки), третью поддерживающую дозу вводят через 3 суток после первой поддерживающей дозы (например на 8-е сутки), и четвертую и пятую поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом (например на 15 и 22-е сутки). В последующих циклах лечения поддерживающие дозы можно продолжать вводить с недельным или более длительным интервалом дозирования.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения лечение включает второй цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например в 1, 8, 15 и 22-е сутки). В следующих воплощениях пациент остается на недельном интервале дозирования в течение 1–5, 1–3, 1–2, 2–3 следующих циклов лечения, предпочтительно 2 следующих циклов лечения (в дополнение к первому циклу лечения). В некоторых воплощениях лечение включает второй и третий цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например в 1, 8, 15 и 22-е сутки).

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения поддерживающие дозы можно вводить с двухнедельным интервалом дозирования в циклах лечения (например в 1 и 15-е сутки) после завершения недельного(ых) цикла(ов) лечения. В следующих воплощениях пациент остается на двухнедельном интервале дозирования в течение 1–5, 1–3, 1–2, 2–3 недельных циклов лечения, предпочтительно 3 двухнедельных циклов

лечения. В некоторых воплощениях лечение включает четвертый, пятый и шестой цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с двухнедельным интервалом дозирования (например в 1 и 15-е сутки).

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения поддерживающие дозы можно вводить с четырехнедельным интервалом дозирования в последующих циклах лечения (например в 1-е сутки) после завершения двухнедельного(ых) цикла(ов) лечения. В следующих воплощениях пациент остается на четырехнедельном интервале дозирования в течение по меньшей мере одного цикла. Некоторые пациенты продолжают получать лечение в течение всей оставшейся жизни.

В некоторых воплощениях лечение включает:

- 1) первый цикл лечения, где начальную дозу вводят в 1-е сутки и поддерживающие дозы вводят в 3, 5, 8, 15 и 22-е сутки;
- 2) второй и третий цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например в 1, 8, 15 и 22-е сутки);
- 3) четвертый–шестой цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с двухнедельным интервалом дозирования (например в 1 и 15-е сутки); и
- 4) седьмой и последующий цикл, где поддерживающие дозы вводят с четырехнедельным интервалом дозирования (например в 1-е сутки)

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с режимом, представленным в таблице 3.

**Таблица 3**

<b>1-й цикл</b>	<b>2–3 циклы</b>	<b>4–6 циклы</b>	<b>7+ циклы</b>
Начальная доза в 1-е сутки Поддерживающая доза в 3, 5, 8, 15, 22-е сутки	Поддерживающая доза в 1, 8, 15, 22-е сутки	Поддерживающая доза в 1, 15-е сутки	Поддерживающая доза в 1-е сутки

В некоторых воплощениях режимов, указанных в таблице 1, таблице 2 или таблице 3, поддерживающие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят в виде двух или более доз одинаковой

концентрации. В некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу от примерно 1,5 мг до 4,5 мг; от примерно 2 мг до 4 мг; от примерно 2,5 мг до 3,5 мг, например примерно 3 мг. В некоторых воплощениях первая и последующие поддерживающие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляют собой фиксированную дозу от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 7 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг. В некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 3 мг, и первая и последующие поддерживающие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляют собой фиксированную дозу примерно 6 мг.

В некоторых воплощениях режимов, указанных в таблице 1, таблице 2 или таблице 3, поддерживающие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят в виде двух или более доз одинаковой концентрации. В некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 6 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг. В некоторых воплощениях первая и последующие поддерживающие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляют собой фиксированную дозу от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг. В некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг, и первая и последующие поддерживающие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляют собой фиксированную дозу примерно 10 мг.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с режимом, представленным в таблице 4.

**Таблица 4**

<b>1-й цикл</b>	<b>2–3 циклы</b>	<b>4–6 циклы</b>	<b>7+ циклы</b>
Начальная доза в 1-е сутки (например	Максимальная поддерживающая	Максимальная поддерживающая	Максимальная поддерживающая

примерно 3 или 6 мг) Максимальная поддерживающая доза в 8, 15, 22-е сутки (например примерно 6 или 10 мг)	доза в 1, 8, 15, 22-е сутки (например примерно 6 или 10 мг)	доза в 1, 15-е сутки (например примерно 6 или 10 мг)	доза в 1-е сутки (например примерно 6 или 10 мг)
--	---	--	--

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с режимом, представленным в таблице 5.

Таблица 5

1-й цикл	2–3 циклы	4–6 циклы	7+ циклы
Начальная доза в 1-е сутки (например примерно 3 или 6 мг) Максимальная поддерживающая доза в 4, 8, 15, 22-е сутки (например примерно 6 или 10 мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1, 8, 15, 22-е сутки (например примерно 6 или 10 мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1, 15-е сутки (например примерно 6 или 10 мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1-е сутки (например примерно 6 или 10 мг)

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с режимом, представленным в таблице 6.

Таблица 6

1-й цикл	2–3 циклы	4–6 циклы	7+ циклы
Начальная доза в 1-е сутки (например примерно 3 или 6 мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1, 8, 15, 22-е	Максимальная поддерживающая доза в 1, 15-е сутки	Максимальная поддерживающая доза в 1-е сутки

Максимальная поддерживающая доза в 3, 5, 8, 15, 22-е сутки (например примерно 6 или 10 мг)	сутки (например примерно 6 или 10 мг)	(например примерно 6 или 10 мг)	(например примерно 6 или 10 мг)
--	---------------------------------------	---------------------------------	---------------------------------

В некоторых воплощениях режимов, указанных в таблице 1, таблице 2 или таблице 3, поддерживающие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят в виде двух или более доз в возрастающей концентрации.

В некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу от примерно 1,5 мг до 4,5 мг; от примерно 2 мг до 4 мг; от примерно 2,5 мг до 3,5 мг, например примерно 3 мг. В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу можно вводить в фиксированной дозе от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 7 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг, и вторую (и возможно последующие) поддерживающую(ие) дозу(ы) мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой (например однократную) фиксированную дозу примерно 3 мг, первая поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг, и вторая (и возможно последующие) поддерживающая(ие) доза(ы) мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет (-ют) собой фиксированную дозу примерно 10 мг.

В некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу от примерно 4,5 мг до 7,5 мг; от примерно 5 мг до 7 мг; от примерно 5,5 мг до 6,5 мг, например примерно 6 мг. В некоторых воплощениях первую поддерживающую дозу можно вводить в фиксированной дозе от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до 11 мг; от

примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг, и вторую (и возможно последующие) поддерживающую(ие) дозу(ы) мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить в фиксированной дозе, превышающей первую поддерживающую дозу. Таким образом, в некоторых воплощениях начальная доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу примерно 6 мг, первая поддерживающая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела представляет собой фиксированную дозу примерно 10 мг, и вторая (и возможно последующие) поддерживающая(ие) доза(ы) мультиспецифического (например биспецифического) антитела превышает первую поддерживающую дозу.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с режимом, представленным в таблице 7.

Таблица 7

1-й цикл	2–3 циклы	4–6 циклы	7+ циклы
Начальная доза в 1-е сутки (например 3 или 6 мг) Первая поддерживающая доза в 8-е сутки (например 6 или 10 мг) Максимальная поддерживающая доза в 15, 22-е сутки (например 10 или 10+ мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1, 8, 15, 22-е сутки (например 10 или 10+ мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1, 15-е сутки (например 10 или 10+ мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1-е сутки (например 10 или 10+ мг)

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с режимом, представленным в таблице 8.

Таблица 8

1-й цикл	2–3 циклы	4–6 циклы	7+ циклы
Начальная доза в 1-е сутки (например 3 или 6 мг) Первая поддерживающая доза в 4-е сутки (например 6 или 10 мг) Максимальная поддерживающая доза в 8, 15, 22-е сутки (например 10 или 10+ мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1, 8, 15, 22-е сутки (например 10 или 10+ мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1, 15-е сутки (например 10 или 10+ мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1-е сутки (например 10 или 10+ мг)

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с режимом, представленным в таблице 9.

Таблица 9

1-й цикл	2–3 циклы	4–6 циклы	7+ циклы
Начальная доза в 1-е сутки (например 3 или 6 мг) Первая поддерживающая доза в 3-е сутки (например 6 или 10 мг) Максимальная поддерживающая доза в 5, 8, 15, 22-е	Максимальная поддерживающая доза в 1, 8, 15, 22-е сутки (например 10 или 10+ мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1, 15-е сутки (например 10 или 10+ мг)	Максимальная поддерживающая доза в 1-е сутки (например 10 или 10+ мг)



сутки (например 10 или 10+ мг)			
-----------------------------------	--	--	--

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело вводят внутривенно или подкожно. В этом отношении данные (не показано) позволяют предположить, что биодоступность при подкожном мультиспецифического (например биспецифического) антитела (например 42-ТСВсv) сопоставима с внутривенным введением.

В некоторых воплощениях начальную дозу и первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить внутривенно, и последующие (например вторую, третью, четвертую или пятую) поддерживающие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить подкожно.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с любым из режимов, указанных в таблицах 1–9, где начальную дозу и первую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить внутривенно, и последующие (например вторую, третью, четвертую или пятую) поддерживающие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела можно вводить подкожно.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с любым из режимов, указанных в таблицах 1–9, где циклы 1–2 можно вводить внутривенно, и циклы 3+ можно вводить подкожно.

Если дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела (например 42-ТСВсv) вводят подкожно, доза максимальной концентрации может представлять собой фиксированную дозу от примерно 18,5 мг до 21,5 мг; от примерно 19 мг до 21 мг; от примерно 19,5 мг до 20,5 мг, например примерно 20 мг.

В предпочтительных воплощениях любого аспекта изобретения мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело вводят внутривенно.

**Высокая доза мультиспецифического (например биспецифического) антитела**

В другом аспекте в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА (например ВСМА-экспрессирующих В-клеточных злокачественных заболеваний, таких как множественная миелома) у пациента (например человека), где лечение включает введение пациенту первой поддерживающей дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела, связывающегося с ВСМА и CD3, возможно с последующим введением одной или более дополнительных поддерживающих доз мультиспецифического (например биспецифического) антитела.

В другом аспекте в настоящем изобретении предложено мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело, связывающееся с ВСМА и CD3, для применения в лечении расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА (например ВСМА-экспрессирующих В-клеточных злокачественных заболеваний, таких как множественная миелома) у пациента (например человека), где лечение включает введение пациенту первой поддерживающей дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела, возможно с последующим введением одной или более дополнительных поддерживающих доз мультиспецифического (например биспецифического) антитела.

В некоторых воплощениях первая поддерживающая доза может иметь концентрацию от примерно 4,5 мг до примерно 11,5 мг (в настоящем документе ее называют «высокой дозой мультиспецифического (например биспецифического) антитела»). В некоторых воплощениях первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу более 6 мг, более 6,5 мг, более 7 мг, например более 7,5 мг. В некоторых воплощениях первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу от примерно 6 мг до примерно 11,5 мг, от примерно 6,5 мг до примерно 11 мг, от примерно 7 мг до примерно 10,5 мг, например от примерно 7,5 мг до примерно 10 мг. В некоторых воплощениях первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу от примерно 8,5 мг до 11,5 мг; от примерно 9 мг до примерно 11 мг; от примерно 9,5 мг до примерно 10,5 мг, например примерно 10 мг. В альтернативных воплощениях первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу от примерно 4,5 мг до примерно 7,5 мг; от примерно 5 мг до примерно 6 мг; от примерно 5,5 мг до примерно 6,5 мг, например примерно 6 мг.

В некоторых воплощениях после введения первой поддерживающей дозы не возникают явления CRS со степенью тяжести  $>3$ , предпочтительно не возникают явления

CRS со степенью тяжести  $>2$ , предпочтительно не возникают явления CRS со степенью тяжести  $>1$ , предпочтительно не возникают явления CRS со степени тяжести 1 или более, предпочтительно не возникают никакие явления CRS, возможно, где первую поддерживающую дозу вводят без профилактики дексаметазоном.

В воплощениях, где лечение включает одну или более дополнительных поддерживающих доз, т. е. по меньшей мере вторую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела, вторую поддерживающую дозу можно вводить пациенту через 1–21 сутки, например через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 сутки после первой поддерживающей дозы. В некоторых воплощениях вторую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят пациенту через 7 суток после первой поддерживающей дозы. В некоторых воплощениях вторую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят пациенту через 14 суток после первой поддерживающей дозы. В некоторых воплощениях после введения второй поддерживающей дозы не возникают явления CRS со степенью тяжести  $>3$ , предпочтительно не возникают явления CRS со степенью тяжести  $>2$ , предпочтительно не возникают явления CRS со степенью тяжести  $>1$ , предпочтительно не возникают явления CRS со степенью тяжести 1 или более, предпочтительно не возникают никакие явления CRS, возможно, где вторую поддерживающую дозу вводят без профилактики дексаметазоном.

Лечение может включать третью поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела, которую вводят пациенту через 1–21 сутки, например через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 сутки после второй поддерживающей дозы. В некоторых воплощениях третью поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят пациенту через 7 суток после второй поддерживающей дозы. В некоторых воплощениях третью поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят пациенту через 14 суток после второй поддерживающей дозы. В некоторых воплощениях после введения третьей поддерживающей дозы не возникают явления CRS со степенью тяжести  $>3$ , предпочтительно не возникают явления CRS со степенью тяжести  $>2$ , предпочтительно не возникают явления CRS со степенью тяжести  $>1$ , предпочтительно не возникают

явления CRS со степенью тяжести 1 или более, предпочтительно не возникают никакие явления CRS, возможно, где третью поддерживающую дозу вводят без профилактики дексаметазоном.

В некоторых воплощениях лечение включает введение следующих поддерживающих доз, например четвертой, пятой, шестой поддерживающих доз. В некоторых воплощениях, в которых лечение включает четвертую поддерживающую дозу, лечение включает пятый цикл лечения, возможно где первую поддерживающую дозу вводят пациенту в виде фиксированной дозы в 1-е сутки, и дополнительные поддерживающие дозы последовательно вводят с недельным интервалом дозирования (например каждые 7 суток) в течение трех последовательных недель (например в 8, 15 и 22-е сутки).

В некоторых воплощениях лечение включает последующие циклы лечения, например второй, третий, четвертый, пятый, шестой, седьмой циклы лечения. В некоторых воплощениях, в которых лечение включает последующие циклы лечения, поддерживающие дозы продолжают вводить в последующих циклах лечения с недельным или более длительным интервалом дозирования.

В некоторых воплощениях лечение включает:

- 1) первый цикл лечения, где первую поддерживающую дозу вводят в 1-е сутки и дополнительные поддерживающие дозы вводят в 8, 15 и 22-е сутки;
- 2) второй и третий цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с недельным интервалом дозирования (например в 1, 8, 15 и 22-е сутки);
- 3) четвертый–шестой цикл лечения, где поддерживающие дозы вводят с двухнедельным интервалом дозирования (например в 1 и 15-е сутки); и
- 4) седьмой и последующий цикл, где поддерживающие дозы вводят с четырехнедельным интервалом дозирования (например в 1-е сутки).

Таким образом, следует понимать, что мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело (например 42-ТСВсv) можно вводить пациенту в соответствии с режимом, указанным в таблице 1, где первую поддерживающую дозу вводят вместо «начальной дозы».

В некоторых воплощениях одна или более дополнительных поддерживающих доз представляют собой фиксированные дозы такой же концентрации, что и первая поддерживающая доза. Если у пациента развивается нежелательное явление (например

CRS) после введения поддерживающей дозы (например первой, второй, третьей или четвертой поддерживающей дозы), следующая поддерживающая доза (например вторая, третья, четвертая или пятая поддерживающая доза) может иметь более низкую концентрацию, чем поддерживающая доза, которая вызвала нежелательное явление (например CRS).

### **Нежелательные явления**

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения у пациента развивается нежелательное явление, связанное с введением мультиспецифического (например биспецифического) антитела, либо он подвержен риску его развития. Это нежелательное явление может представлять собой цитокиновые токсические явления (например синдром выброса цитокинов (CRS)), инфузионные реакции (IRR), синдром активации макрофагов (MAS), неврологические токсические явления, тяжелый синдром лизиса опухоли (TLS), нейтропению, тромбоцитопению, повышение уровня ферментов печени, бактериальные инфекции, вирусные инфекции и/или токсические явления со стороны нервной системы (ЦНС). В конкретных воплощениях нежелательное явление представляет собой CRS.

В случае, когда у пациента развивается нежелательное явление, или он подвержен риску его развития, в связи с введением мультиспецифического (например биспецифического) антитела, лечение в соответствии с любым аспектом изобретения дополнительно включает введение агента, способного лечить, предупреждать, задерживать, уменьшать или ослаблять развитие или риск развития нежелательного явления. Этот агент можно вводить пациенту перед началом лечения мультиспецифическим (например биспецифическим) антителом (например в качестве профилактики для предупреждения или снижения риска развития нежелательного явления) или в ходе лечения мультиспецифическим (например биспецифическим) антителом (например в ответ на развитие нежелательного явления). В некоторых воплощениях этот агент включает стероид, такой как кортикостероид. При использовании в настоящем документе «кортикостероид» означает любой природный или синтетический стероидный гормон, который может быть получен из холестерина и характеризуется гидрогенизированной циклопентанопергидрофенантроновой кольцевой системой. Природные кортикостероиды обычно вырабатываются надпочечниками. Синтетические кортикостероиды могут быть галогенированными. Функциональные

группы, которые требуются для активности, включают двойную связь при  $\Delta^4$ , C3 кетон и C20 кетон. Кортикостероиды могут обладать глюкокортикоидной и/или минералокортикоидной активностью. Примеры типичных кортикостероидов включают преднизолон, метилпреднизолон, преднизон, триамцинолон, бетаметазон, будесонид и дексаметазон. В некоторых воплощениях агент представляет собой дексаметазон.

В некоторых воплощениях агент включает антагонист рецептора цитокина или цитокин, выбранные из GM-CSF, IL-10, IL-10R, IL-6, рецептора IL-6 (IL-6R), IFN $\gamma$ , IFNGR, IL-2, IL-2R/CD25, MCP-1, CCR2, CCR4, MIP1 $\beta$ , CCR5, TNF-альфа, TNFR1, IL-1 (например IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1RA) и рецептора IL-1 (IL-1R), где антагонист выбран из антитела или антигенсвязывающего фрагмента, малой молекулы, белка или пептида, и нуклеиновой кислоты. Антагонист может представлять собой антитело к IL-6 и/или антитело к IL6R. Например, антагонист может быть выбран из тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сарилумаба, олокизумаба, элсилимомаба, ALD518/BMS-945429, сирукумаба (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, лензилумаба, FE301 и FM101. В некоторых воплощениях антагонист представляет собой тоцилизумаб и/или силтуксимаб. Альтернативно, антагонист может представлять собой анти-IL-1 антагонист и/или анти-IL-1R антагонист, например анакинра.

В некоторых воплощениях агент включает молекулу, которая уменьшает популяцию регуляторных Т-клеток (Treg). Агенты, которые уменьшают число (например истощают) клеток Treg, известны в данной области техники и включают, например, истощение CD25, введение циклофосфида, антитело к CTLA4 (антигену 4 цитотоксических Т лимфоцитов) и модулирование функции гена белка семейства глюкокортикоид-индуцируемых белков TNLR (GITR). GITR является членом суперсемейства TNLR, регуляция которого повышается на активированных Т-клетках, что усиливает иммунную систему. В некоторых воплощениях лечение включает введение циклофосфида.

В некоторых воплощениях агент, способный лечить, предупреждать, задерживать, снижать или ослаблять развитие или риск развития нежелательного явления, вводят пациенту в виде одной или более доз перед началом лечения мультиспецифическим (например биспецифическим) антителом в качестве профилактического лечения нежелательного явления.

В некоторых воплощениях агент, способный лечить, предупреждать,

задерживать, снижать или ослаблять развитие или риск развития нежелательного явления, вводят пациенту в комбинации с одной или более дозами мультиспецифического (например биспецифического) антитела в качестве профилактического лечения нежелательного явления. Агент можно вводить в виде одной или более доз последовательно (до и/или после) и/или одновременно с мультиспецифическим (например биспецифическим) антителом.

В некоторых воплощениях агент, способный лечить, предупреждать, задерживать, снижать или ослаблять развитие или риск развития нежелательного явления, вводят пациенту в комбинации с первой дозой мультиспецифического (например биспецифического) антитела в качестве профилактического лечения нежелательного явления. Агент можно вводить в виде одной или более доз последовательно (до и/или после) и/или одновременно с мультиспецифическим (например биспецифическим) антителом.

В некоторых воплощениях агент, способный лечить, предупреждать, задерживать, снижать или ослаблять развитие или риск развития нежелательного явления, вводят пациенту в комбинации с каждым увеличением дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела в качестве профилактического лечения нежелательного явления. Агент можно вводить в виде одной или более доз последовательно (до и/или после) и/или одновременно с мультиспецифическим (например биспецифическим) антителом.

В некоторых воплощениях, в которых лечение включает введение пациенту первой поддерживающей дозы и одной или более дополнительных поддерживающих доз мультиспецифического (например биспецифического) антитела, поддерживающие дозы вводят в режиме дозирования, включающем:

(1) начальную фазу, когда первую поддерживающую дозу и возможно одну или более дополнительных поддерживающих доз мультиспецифического (например биспецифического) антитела вводят пациенту в комбинации с профилактическим лечением, с последующей

(2) поддерживающей фазой, где пациенту вводят одну или более поддерживающих доз мультиспецифического (например биспецифического) антитела, где профилактическое лечение включает введение пациенту агента в виде одной или более доз последовательно (до и/или после) и/или одновременно с поддерживающей

дозой мультиспецифического (например биспецифического) антитела, где агент способен лечить, предупреждать, задерживать, уменьшать или ослаблять развитие или риск развития цитокиновых токсических явлений (например CRS).

Введение мультиспецифического (например биспецифического) антитела в комбинации с профилактическим лечением в начальной фазе значительно снижает токсичность за счет ослабления выброса цитокинов. Таким образом, следует понимать, что поддерживающие дозы начальной фазы могут включать высокие дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела, как описано в настоящем документе, например от примерно 8,5 мг до 11,5 мг, от примерно 9 мг до 11 мг, от примерно 9,5 мг до 10,5 мг, например примерно 10 мг.

В профилактических воплощениях профилактическое лечение включает введение по меньшей мере одной дозы агента (например CRS агента) до поддерживающей дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела. В некоторых воплощениях профилактическое лечение включает введение одной или более доз (например двух доз) агента (например CRS агента) до поддерживающей дозы и введение одной или более доз агента (например CRS агента) после поддерживающей дозы.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения профилактическое лечение включает введение агента (например CRS агента) в количестве, достаточном для предупреждения, задержки, уменьшения или ослабления развития или риска развития нежелательного явления (например CRS).

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения профилактическое лечение включает введение кортикостероида, такого как дексаметазон. В некоторых воплощениях дексаметазон вводят в дозе примерно 10–20 мг, предпочтительно внутривенно. В воплощениях, в которых дексаметазон вводят в качестве профилактического лечения цитокиновой токсичности (например CRS), предпочтительно дексаметазон вводят в количестве, достаточном для ослабления секреции цитокинов (например GM-CSF, IL-2 и/или TNF- $\alpha$ ), индуцированной мультиспецифическим (например биспецифическим) антителом по изобретению.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения профилактическое лечение включает введение антагониста рецептора цитокина или цитокина, такого как антагонист IL-6, рецептора IL-6 (IL-6R), IL-1 (например IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1RA) и/или рецептора IL-1 (IL-1R), где антагонист выбран из антитела или антигенсвязывающего



фрагмента, малой молекулы, белка или пептида и нуклеиновой кислоты.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения профилактическое лечение включает антагонистическое антитело к IL-6 и/или антагонистическое антитело к IL-6R, например тоцилизумаб. В некоторых воплощениях тоцилизумаб вводят пациенту в виде одной или более доз примерно 8 мг/кг, предпочтительно внутривенно. В предпочтительных воплощениях тоцилизумаб вводят по меньшей мере за 30 минут до введения мультиспецифического (например биспецифического) антитела. В воплощениях, в которых тоцилизумаб вводят в качестве профилактического лечения цитокиновой токсичности (например CRS), предпочтительно тоцилизумаб вводят в количестве, достаточном для ослабления сигнала рецептора IL-6, индуцированного мультиспецифическим (например биспецифическим) антителом по изобретению.

В некоторых воплощениях начальная фаза включает первую и вторую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела, каждую из которых вводят пациенту в комбинации с профилактическим лечением, где профилактическое лечение включает однократную дозу тоцилизумаба, которую вводят по меньшей мере за 30 минут до поддерживающей дозы, возможно, где вторую поддерживающую дозу вводят пациенту через 7 суток после первой поддерживающей дозы.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения профилактическое лечение включает анти-IL-1 антагонист и/или анти-IL-1R антагонист, например анакинра. В некоторых воплощениях анакинра вводят в качестве профилактического лечения цитокиновой токсичности (например CRS), предпочтительно в количестве, достаточном для ослабления сигнала рецептора IL-1, индуцированного мультиспецифическим (например биспецифическим) антителом по изобретению. Анакинра можно вводить в дозе примерно 100 мг (например  $100 \text{ мг} \pm 20\%$ ), предпочтительно подкожно. В некоторых воплощениях анакинра вводят пациенту в дозе примерно 100 мг, предпочтительно подкожно. В некоторых воплощениях профилактическое лечение включает по меньшей мере одну дозу анакинра, которую вводят до мультиспецифического (например биспецифического) антитела, и по меньшей мере одну дозу анакинра, которую вводят после мультиспецифического (например биспецифического) антитела.

Анакинра можно вводить пациенту в виде одной или более фиксированных доз

от примерно 16 часов до примерно 2 часов до мультиспецифического (например биспецифического) антитела, и возможно фиксированную дозу от примерно 20 часов до примерно 22 часов после мультиспецифического (например биспецифического) антитела. В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения анакинра вводят в виде:

(1) фиксированной дозы от примерно 16 часов до примерно 8 часов до мультиспецифического (например биспецифического) антитела; и/или

(2) фиксированной дозы от примерно 4 часов до примерно 2 часов до мультиспецифического (например биспецифического) антитела,

возможно, где дополнительную фиксированную дозу анакинра вводят от примерно 20 часов до примерно 22 часов после мультиспецифического (например биспецифического) антитела.

В некоторых воплощениях начальная фаза включает первую и вторую поддерживающую дозу мультиспецифического (например биспецифического) антитела, где каждую дозу вводят пациенту в комбинации с профилактическим лечением, где

(1) первую поддерживающую дозу вводят в комбинации с: первой дозой анакинра от примерно 16 часов до примерно 8 часов до поддерживающей дозы; второй дозой анакинра от примерно 4 часов до примерно 2 часов до поддерживающей дозы; и третьей дозой анакинра от примерно 20 часов до примерно 22 часов после поддерживающей дозы; и

(2) вторую поддерживающую дозу вводят в комбинации с: четвертой дозой анакинра от примерно 4 часов до примерно 2 часов до поддерживающей дозы; и пятой дозой анакинра от примерно 20 часов до примерно 22 часов после поддерживающей дозы,

возможно где вторую поддерживающую дозу вводят пациенту через 7 суток после первой поддерживающей дозы.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения профилактическое лечение включает введение дексаметазона (например примерно 10–20 мг, предпочтительно внутривенно) с тоцилизумабом (например примерно 8 мг/кг, предпочтительно внутривенно). В некоторых воплощениях профилактическое лечение включает введение дексаметазона (например примерно 10–20 мг, предпочтительно внутривенно) с анакинра (например примерно 100 мг, предпочтительно подкожно).

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения профилактическое лечение включает введение симптоматической поддерживающей терапии, включая введение жаропонижающих средств, анальгетиков, противовирусных средств и/или антибиотиков. В некоторых воплощениях симптоматическая поддерживающая терапия включает введение противовирусных средств (например ацикловира, озельтамивира, занамивира и/или их эквивалентов) и/или антибиотиков (например триметоприма — сульфаметоксазола, левофлоксацина и/или их эквивалентов). В некоторых воплощениях профилактическое лечение включает введение противосудорожной профилактики (например леветирацетама). Симптоматическую поддерживающую терапию и/или противосудорожную профилактику можно вводить в дополнение к агенту, способному лечить, предупреждать, задерживать, снижать или ослаблять развитие или риск развития нежелательного явления.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения агент, способный лечить, предупреждать, задерживать, снижать или ослаблять развитие или риск развития нежелательного явления, вводят пациенту в случае развития у пациента нежелательного явления, связанного с введением мультиспецифического (например биспецифического) антитела. В некоторых воплощениях лечение включает введение агента в терапевтическом количестве, или в количестве, достаточном для частичного или полного ослабления или облегчения нежелательного явления (например CRS) или его симптомов.

Если у пациента развивается нежелательное явление (например CRS) после введения мультиспецифического (например биспецифического) антитела по изобретению, лечение может дополнительно включать введение антагонистического антитела к IL-6R, например тоцилизумаба. В некоторых воплощениях тоцилизумаб вводят пациенту в виде однократной дозы примерно 8 мг/кг, предпочтительно внутривенно. В некоторых воплощениях лечение может дополнительно включать введение пациенту одной или более дополнительных доз антагонистического антитела к IL-6R, например тоцилизумаба. В некоторых воплощениях тоцилизумаб вводят пациенту в одной или более дополнительных доз примерно 8 мг/кг, предпочтительно внутривенно.

В некоторых воплощениях, если у пациента развивается нежелательное явление (например CRS) после введения мультиспецифического (например биспецифического) антитела по изобретению, лечение может дополнительно включать введение

антагонистического антитела к IL-1 и/или антагонистического антитела к IL-1R, например анакинра. В некоторых воплощениях анакинра вводят пациенту в виде одной или более фиксированных доз примерно 100 мг, предпочтительно подкожно. В некоторых воплощениях анакинра вводят пациенту два раза в сутки, предпочтительно в виде фиксированных доз примерно 100 мг, предпочтительно подкожно.

В некоторых воплощениях в случае возникновения нежелательного явления (например CRS) лечение может дополнительно включать введение антагонистического антитела к IL-6, например силтуксимаба. В некоторых воплощениях силтуксимаб вводят пациенту в виде однократной дозы примерно 11 мг/кг, предпочтительно внутривенно

В некоторых воплощениях в случае возникновения нежелательного явления (например CRS) лечение может дополнительно включать введение пациенту кортикостероида, такого как метилпреднизолон или дексаметазон. В некоторых воплощениях дексаметазон вводят в дозе примерно 10–20 мг, предпочтительно внутривенно. В некоторых воплощениях метилпреднизолон вводят в дозе от примерно 1 мг/кг в сутки до примерно 5 мг/кг в сутки, например примерно 2 мг/кг в сутки.

В некоторых воплощениях дополнительное лечение может быть основано на стадии CRS. Для оценки степени тяжести и лечения CRS была разработана модификация общих терминологических критериев оценки нежелательных явлений (CTCAE) для CRS, подробно описанная в таблице 10:

**Таблица 10: Оценка степени тяжести и лечения синдрома высвобождения цитокинов**

	Симптомы/ проявления	CRS со степенью тяжести 1 (легкий)	CRS со степенью тяжести 2 (умеренный)	CRS со степенью тяжести (тяжелый)	CRS со степенью тяжести 4 (угрожающий жизни)
Показатель жизнедеятель- ности	Темп. $\geq$ 38 °C	Да	Возможно	Возможно	Возможно
	Систоли- ческое кровяное давление (SBP) $\leq$	Нет	Отвечает на внутривенные (в/в) жидкости или однократную	Необходима высокая доза или несколько сосудосужи-	Угрожающий жизни

	90 мм рт. ст.		низкую дозу сосудосуживающего средства	вающих средств	
	Потребность в кислороде для сат. O <sub>2</sub> > 90%	Нет	FiO <sub>2</sub> <40%	FiO <sub>2</sub> ≥40%	Требуется вентиляционная поддержка
Органо- токсичность		1 степень	2 степень	3 степень или трансаминит 4 степени	4 степень

Например, в воплощениях, в которых у пациента наступает CRS 2 степени тяжести после введения мультиспецифического (например биспецифического) антитела, лечение может дополнительно включать введение терапии первой линии, включающей введение антагонистического антитела к IL-6 и/или антагонистического антитела к IL-6R, например тоцилизумаба. В некоторых случаях тоцилизумаб вводят пациенту внутривенно в виде однократной дозы примерно 8 мг/кг.

В альтернативных воплощениях, в которых у пациента наступает CRS 2 степени тяжести после введения мультиспецифического (например биспецифического) антитела, лечение может дополнительно включать введение терапии первой линии, включающей введение одной или более фиксированных доз анти-IL-1 антагониста и/или анти-IL-1R антагониста, например анакинра. Анакинра можно вводить в дозе примерно 100 мг (например 100 мг ± 20%), предпочтительно подкожно. В некоторых воплощениях анакинра вводят пациенту в виде одной или более фиксированных доз примерно 100 мг, предпочтительно подкожно. В некоторых воплощениях анакинра вводят пациенту два раза в сутки, предпочтительно в виде фиксированных доз примерно 100 мг, предпочтительно подкожно.

В случае развития у пациента CRS 2 степени тяжести с быстрым началом или развития CRS ≥3 степени тяжести после введения мультиспецифического (например биспецифического) антитела лечение может дополнительно включать введение терапии

первой линии, включающей:

(1) антагонистическое антитело к IL-6 и/или антагонистическое антитело к IL-6R, например тоцилизумаб; и

(2) кортикостероид, например дексаметазон или метилпреднизолон.

В некоторых воплощениях тоцилизумаб вводят пациенту внутривенно в дозе примерно 8 мг/кг.

Альтернативно в случае развития у пациента CRS 2 степени тяжести с быстрым началом или развития CRS  $\geq 3$  степени тяжести после введения мультиспецифического (например биспецифического) антитела лечение может дополнительно включать введение терапии первой линии, включающей:

1) анти-IL-1 антагонист и/или анти-IL-1R антагонист, например анакинра; и

2) кортикостероид, например дексаметазон или метилпреднизолон.

В некоторых воплощениях анакинра вводят пациенту в виде одной или более фиксированных доз примерно 100 мг, предпочтительно подкожно. В некоторых воплощениях анакинра вводят пациенту два раза в сутки, предпочтительно в виде фиксированных доз примерно 100 мг, предпочтительно подкожно.

Кортикостероид можно вводить последовательно (до или после) или одновременно с (1) антагонистическим антителом к IL-6 и/или антагонистическим антителом к IL-6R, например тоцилизумабом, или (2) анти-IL-1 антагонистом и/или анти-IL-1R антагонистом, например анакинра. В некоторых воплощениях кортикостероид представляет собой дексаметазон. В некоторых воплощениях дексаметазон вводят в дозе примерно 10–20 мг, предпочтительно внутривенно. В некоторых воплощениях кортикостероид представляет собой метилпреднизолон. В некоторых воплощениях метилпреднизолон вводят в дозе от примерно 1 мг/кг в сутки до примерно 5 мг/кг в сутки, например примерно 2 мг/кг в сутки.

В некоторых воплощениях терапия первой линии включает введение симптоматической поддерживающей терапии CRS, включая введение жаропонижающих средств, анальгетиков и/или антибиотиков. В некоторых воплощениях терапия первой линии включает введение противосудорожной профилактики (например леветирацетама). Симптоматическую поддерживающую терапию и/или противосудорожную профилактику можно вводить в дополнение к агенту, способному лечить, предупреждать, задерживать, снижать или ослаблять развитие или риск развития

нежелательного явления.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения при развитии у пациента CRS после введения дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела (например начальной дозы или поддерживающей дозы) следующую дозу (например следующую начальную дозу или следующую поддерживающую дозу) можно вводить, когда токсичность достигает степени тяжести  $\leq 1$ , как описано в настоящем документе. В альтернативных воплощениях при развитии у пациента CRS следующую дозу можно вводить пациенту по достижении исходных уровней токсичности.

Если явление CRS не устраняется или ухудшается в ответ на терапию первой линии, лечение может дополнительно включать введение терапии второй линии, включающей:

1) одну или более (например одну, две, три, четыре или пять, или более) дополнительных доз антагонистического антитела к IL-6 и/или антагонистического антитела к IL-6R, например тоцилизумаба; и

2) одну или более (например одну, две, три, четыре или пять, или более) дополнительных доз кортикостероида, например дексаметазона или метилпреднизолона.

В некоторых воплощениях одну или более дополнительных доз тоцилизумаба вводят пациенту внутривенно в дозе примерно 8 мг/кг. Кортикостероид можно вводить последовательно (до или после) или одновременно с антагонистическим антителом к IL-6 и/или антагонистическим антителом к IL-6R, например тоцилизумабом. В некоторых воплощениях кортикостероид представляет собой дексаметазон. В некоторых воплощениях дексаметазон вводят в дозе примерно 10–20 мг, предпочтительно внутривенно. В некоторых воплощениях кортикостероид представляет собой метилпреднизолон. В некоторых воплощениях метилпреднизолон вводят в дозе от примерно 1 мг/кг в сутки до примерно 5 мг/кг в сутки, например примерно 2 мг/кг в сутки.

Если явление CRS не устраняется или ухудшается в ответ на терапию второй линии, лечение может дополнительно включать введение терапии третьей линии, включающей: введение антагониста рецептора цитокина или цитокина, выбранного из GM-CSF, IL-10, IL-10R, IL-6, рецептора IL-6 (IL-6R), IFN $\gamma$ , IFNGR, IL-2, IL-2R/CD25, MCP-1, CCR2, CCR4, MIP1 $\beta$ , CCR5, TNF-альфа, TNFR1, IL-1 (например IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1RA) и рецептора IL-1 (IL-1R), где антагонист выбран из антитела или

антигенсвязывающего фрагмента, малой молекулы, белка или пептида, и нуклеиновой кислоты. Антагонист может представлять собой антитело к IL-6 и/или антитело к IL6R. Например, антагонист может быть выбран из тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сарилумаба, олокизумаба, элсалимомаба, ALD518/BMS-945429, сирукумаба (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, лензилумаба, FE301 и FM101. В некоторых воплощениях терапия третьей линии включает введение силтуксимаба. В некоторых воплощениях силтуксимаб вводят пациенту в виде однократной дозы примерно 11 мг/кг, предпочтительно внутривенно. Альтернативно антагонист может представлять собой анти-IL-1 антагонист и/или анти-IL-1R антагонист, например анакинра.

В том случае, если явление CRS не устраняется или ухудшается в ответ на терапию третьей линии, лечение может дополнительно включать введение терапии четвертой линии, включающей введение молекулы, которая уменьшает популяцию регуляторных Т-клеток (Treg). Молекулы, которые уменьшают число (например истощают) клеток Treg, известны в данной области техники и включают, например, истощение CD25, введение циклофосфамида, антитело к CTLA4 и модулирование функции гена белка семейства глюкокортикоид-индуцируемых белков TNLR (GITR). GITR является членом суперсемейства TNLR, регуляция которого повышается на активированных Т-клетках, что усиливает иммунную систему. В некоторых воплощениях терапия четвертой линии включает введение циклофосфамида.

В некоторых воплощениях при возникновении нежелательного явления (например нейтропении, инфекции) лечение может дополнительно включать симптоматическую поддерживающую терапию, включающую введение жаропонижающих средств, анальгетиков, противовирусных средств и/или антибиотиков. В некоторых воплощениях пациенту можно вводить противосудорожную профилактику (например леветирацетам). При развитии у пациента нейтропении (например нейтропении по меньшей мере 3 степени тяжести) лечение может дополнительно включать введение антибиотиков (например левофлоксацина или его эквивалента). При развитии у пациента вирусной инфекции (например гриппа) лечение может дополнительно включать введение озельтамивира, занамивира и/или их эквивалентов.

В некоторых воплощениях любого аспекта изобретения при развитии у пациента



вирусной инфекции (например гриппа А/В, SARS-CoV-2) после введения дозы мультиспецифического (например биспецифического) антитела (например начальной дозы или поддерживающей дозы) следующую дозу (например следующую начальную дозу или следующую поддерживающую дозу) можно вводить пациенту после устранения симптомов инфекции. В альтернативных воплощениях при развитии у пациента вирусной инфекции следующую дозу можно вводить после отрицательного результата теста на вирусную инфекцию, например отрицательного результата ПЦР-теста с панелью вирусов, и/или через по меньшей мере 14 суток после положительного результата теста на вирусную инфекцию, например положительного результата ПЦР-теста с панелью вирусов. Панель вирусов (например панель вирусов для ПЦР) позволяет проводить тест на наличие гриппа А/В, респираторного синцитиального вируса, вируса парагриппа, метапневмовируса, аденовируса и/или SARS-CoV-2.

#### **Мультиспецифическое антитело**

Мультиспецифические (например биспецифические) антитела по изобретению специфично связываются с ВСМА и с CD3. Термины «антитело к ВСМА и CD3», «анти-ВСМА анти-CD3 антитело» или «антитело, связывающееся с ВСМА и CD3», относятся к мультиспецифическому антителу (например биспецифическому антителу), которое способно связываться с ВСМА и CD3 с достаточной аффинностью, так что это антитело полезно в качестве терапевтического агента. Это достигается путем создания молекулы, которая содержит первое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с ВСМА, и второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CD3. Такие мультиспецифические антитела могут представлять собой триспецифические антитела или биспецифические антитела. В предпочтительных воплощениях мультиспецифические антитела представляют собой биспецифические антитела.

Термин «ВСМА» при использовании в настоящем документе относится к антигену созревания В-клеток человека, также известному как ВСМА; TR17\_HUMAN, TNFRSF17 (UniProt Q02223), который является членом суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли, который преимущественно экспрессируется в дифференцированных плазматических клетках. Внеклеточный домен ВСМА состоит согласно системе UniProt из аминокислот 1–54 (или 5–51). Термины «антитело к ВСМА», «анти-ВСМА антитело» или «антитело, связывающееся с ВСМА» при использовании в

настоящем документе относятся к антителу, специфично связывающемуся с внеклеточным доменом ВСМА.

Термин «специфично связывающееся с ВСМА» относится к антителам, которые способны связываться с определенной мишенью с достаточной аффинностью, так что антитело полезно в качестве терапевтического агента при нацеливании на ВСМА. В некоторых воплощениях антитела, специфично связывающиеся с ВСМА, не связывается с другими антигенами или не связывается с другими антигенами с достаточной аффинностью, чтобы оказывать физиологический эффект.

В некоторых воплощениях степень связывания антитела к ВСМА с неродственным белком, отличающимся от ВСМА, примерно в 10 раз, предпочтительно более чем в 100 раз меньше, чем связывание антитела с ВСМА, при измерении, например, методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR), например Biacore®, иммуносорбентного ферментного анализа (ELISA) или проточной цитометрии (FACS). В одном воплощении антитело, связывающееся с ВСМА, имеет константу диссоциации (Kd)  $10^{-8}$  М или менее, предпочтительно от  $10^{-8}$  М до  $10^{-13}$  М, предпочтительно от  $10^{-9}$  М до  $10^{-13}$  М.

В одном воплощении антитело к ВСМА связывается с эпитопом ВСМА, который является консервативным среди ВСМА разных биологических видов, предпочтительно человека и яванского макака, и дополнительно предпочтительно также ВСМА мыши и крысы.

Предпочтительно антитело к ВСМА специфично связывается с группой ВСМА, состоящей из человеческого ВСМА и ВСМА, происходящего из млекопитающего, отличающегося от человека, предпочтительно ВСМА яванского макака, мыши и/или крысы. Антитела к ВСМА анализируют методом ELISA на связывание с человеческим ВСМА с использованием ВСМА, фиксированного на планшете. Для этого анализа используют количество фиксированного на планшете ВСМА предпочтительно 1,5 мкг/мл и концентрация(и) в диапазоне от 0,1 пМ до 200 нМ антитела к ВСМА.

Термин «CD3» относится к мультисубъединичному комплексу человеческого белка CD3. Мультисубъединичный комплекс белка CD3 состоит из 6 отдельных полипептидных цепей. Таким образом, этот термин включает CD3 $\gamma$ -цепь (SwissProt P09693), CD3 $\delta$ -цепь (SwissProt P04234), две CD3 $\epsilon$ -цепи (SwissProt P07766) и один гомодимер CD3 $\zeta$ -цепи (SwissProt 20963), и который ассоциированы с  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепью T-

клеточного рецептора. Этот термин охватывает «полноразмерный» непротессированный CD3, а также любой вариант, изоформу и видовой гомолог CD3, которые в природе экспрессируются клетками (включая Т-клетки) или могут экспрессироваться на клетках, трансфицированных генами или кДНК, кодирующими эти полипептиды.

Термин «специфично связывающееся с CD3» относится к антителу, которое способно связываться с определенной мишенью с достаточной аффинностью, так что антитело полезно в качестве терапевтического агента при нацеливании на CD3. В некоторых воплощениях антитело, специфично связывающееся с CD3, не связывается с другими антигенами или не связывается с другими антигенами с достаточной аффинностью, чтобы оказывать физиологический эффект.

Мультиспецифические (например биспецифические) антитела по изобретению можно анализировать методами SPR, например Biacore®, в отношении связывания с CD3. В некоторых воплощениях биспецифические антитела связываются с человеческим CD3 с константой диссоциации ( $K_D$ ) примерно  $10^{-7}$  М или менее,  $K_D$  примерно  $10^{-8}$  М или менее,  $K_D$  примерно  $10^{-9}$  М или менее,  $K_D$  примерно  $10^{-10}$  М или менее,  $K_D$  примерно  $10^{-11}$  М или менее или  $K_D$  примерно  $10^{-12}$  М или менее, определенной посредством анализа методом поверхностного плазмонного резонанса, предпочтительно измеренной с использованием Biacore 8К при 25°C. В предпочтительных воплощениях биспецифические антитела связываются с человеческим CD3 с константой диссоциации ( $K_D$ ) примерно  $10^{-8}$  М или менее.

Термин «антитело» в настоящем документе охватывает различные структуры антител, включая, без ограничений ими, моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например биспецифические антитела) и фрагменты антител, если они проявляют требуемую антигенсвязывающую активность.

«Тяжелая цепь» включает переменную область тяжелой цепи (в настоящем документе сокращенно «VH») и константную область тяжелой цепи (в настоящем документе сокращенно «CH»). Константная область тяжелой цепи содержит константные области CH1, CH2 и CH3 тяжелой цепи (антитела классов IgA, IgD и IgG) и возможно константную область CH4 тяжелой цепи (антитела классов IgE и IgM).

«Легкая цепь» включает переменную область легкой цепи (в настоящем документе сокращенно «VL») и константную область легкой цепи (в настоящем

документе сокращенно «CL»). Вариабельные области VH и VL могут быть дополнительно разделены на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), чередующиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая область VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. «Константные области» тяжелой цепи и легкой цепи непосредственно не вовлечены в связывание антитела с мишенью, но осуществляют различные эффекторные функции.

Связывание антитела и его целевого антигена или эпитопа опосредовано областями, определяющими комплементарность (CDR). CDR представляют собой области с высокой вариабельностью последовательности, локализованные внутри вариабельной области тяжелой цепи и легкой цепи антитела, где они образуют антигенсвязывающий участок. CDR являются главными детерминантами антигенной специфичности. Как правило, каждая тяжелая цепь и легкая цепь антитела содержит три CDR, расположенные не последовательно. Области CDR3 тяжелой и легкой цепи антитела играют особенно важную роль в связывающей специфичности/аффинности антител в соответствии с изобретением и, таким образом, обеспечивают дополнительный аспект изобретения.

Используемый в настоящем документе термин «антигенсвязывающий фрагмент» включает любую природную или искусственно сконструированную конфигурацию антигенсвязывающего полипептида, содержащую один, два или три CDR легкой цепи и/или один, два или три CDR тяжелой цепи, где этот полипептид способен связываться с антигеном. Таким образом, этот термин относится к молекуле, отличающейся от интактного антитела тем, что она содержит часть интактного антитела, связывающуюся с антигеном, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антитела включают, без ограничения ими, F<sub>v</sub>, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>; диатела; линейные антитела; одноцепочечные молекулы антител (например scFv); и мультиспецифические антитела, образованные фрагментами антител.

Термины «Fab-фрагмент» и «Fab» в настоящем документе используются взаимозаменяемо и содержат одну легкую цепь (т. е. константный домен CL и VL) и одну тяжелую цепь (т. е. константный домен CH1 и VH). Тяжелая цепь Fab-фрагмента неспособна к образованию дисульфидной связи с другой тяжелой цепью.

«Fab' фрагмент» содержит одну легкую цепь и одну тяжелую цепь, но в дополнение к CH1 и VH, «Fab' фрагмент» содержит область тяжелой цепи между доменами CH1 и CH2, которая требуется для образования межцепочечной дисульфидной связи. Таким образом, два «Fab' фрагмента» могут ассоциироваться путем образования дисульфидной связи с образованием молекулы F(ab')<sub>2</sub>.

«F(ab')<sub>2</sub> фрагмент» содержит две легкие цепи и две тяжелые цепи. Каждая цепь содержит часть константной области, необходимую для образования межцепочечной дисульфидной связи между двумя тяжелыми цепями.

«Fv фрагмент» содержит только переменные области тяжелой и легкой цепи. Он не содержит константные области.

«Однодоменное антитело» представляет собой фрагмент антитела, содержащий одну доменную единицу антитела (например VH или VL).

«Одноцепочечный Fv» (scFv) представляет собой фрагмент антитела, содержащий домены VH и VL антитела, соединенные вместе с образованием одной цепи. Полипептидный линкер часто используют для соединения доменов VH и VL в scFv.

«Тандемный scFv», также известный как TandAb<sup>®</sup>, представляет собой одноцепочечную молекулу Fv, образованную посредством ковалентного связывания двух scFv в тандемной ориентации с гибким пептидным линкером.

«Привлекающий Т-клетки биспецифический активатор» (BiTE<sup>®</sup>) представляет собой слитый белок, состоящий из двух одноцепочечных переменных фрагментов (scFv) на одной пептидной цепи. Один из двух scFv связывается с Т-клетками посредством рецептора CD3, и другой связывается с антигеном опухолевой клетки.

«Диатело» представляет собой небольшой бивалентный и биспецифический фрагмент антитела, содержащий переменный домен тяжелой цепи (VH), соединенный с переменным доменом легкой цепи (VL) на одной полипептидной цепи (VH-VL), соединенные пептидным линкером, который является слишком коротким для того, чтобы допустить спаривание этих двух доменов на одной цепи (Kipriyanov, *Int. J. Cancer* 77 (1998), 763–772). Это форсирует спаривание с комплементарными доменами другой цепи и стимулирует сборку димерной молекулы с двумя функциональными антигенсвязывающими участками.

«DARPin» представляет собой биспецифическую молекулу с анкириновым повтором. Молекулы DARPin происходят из природных белков с анкириновыми

повторами, которые можно найти в геноме человека и которые являются одним из самых распространенных типов связывающих белков. Модуль библиотеки DARPIn определяется природными последовательностями белков с анкириновыми повторами с использованием 229 анкириновых повторов для начального дизайна и других 2200 для последующего уточнения. Эти модули служат в качестве «строительных блоков» для библиотек DARPIn. Модули библиотеки напоминают последовательности генома человека. DARPIn состоит из 4–6 модулей. Так как каждый модуль составляет приблизительно 3,5 кДа, размер среднего DARPIn составляет 16–21 кДа. Выбор связывающих агентов выполняют методом рибосомного дисплея, который является полностью бесклеточным и описан в He M. and Taussig MJ., *Biochem Soc Trans.* 2007, Nov;35(Pt 5):962–5.

Последовательность CDR можно идентифицировать путем обращения к любой системе нумерации, известной в данной области техники, например системе Kabat (Kabat, E. A., et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991); системе Chothia (Chothia & Lesk, “Canonical Structures for the Hypervariable Regions of Immunoglobulins,” *J. Mol. Biol.* 196, 901–917 (1987)); или системе IMGT (базы данных по иммуногенетике (ImMunoGeneTics, IMGT)) (Lefranc et al., “IMGT Unique Numbering for Immunoglobulin and Cell Receptor Variable Domains and Ig superfamily V-like domains,” *Dev. Comp. Immunol.* 27, 55–77 (2003)).

**Таблица 11: Определения CDR**

	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>IMGT</b>
VH CDR1	31–35	26–32	27–38
VH CDR2	50–65	52–56	56–65
VH CDR3	95–102	95–102	105–117
VL CDR1	24–34	24–34	27–38
VL CDR2	50–56	50–56	56–65
VL CDR3	89–97	89–97	105–117

Для положений аминокислот константной области тяжелой цепи, обсуждаемых в изобретении, нумерация соответствует EU индексу, впервые описанному в Edelman, G.M., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 63 (1969) 78–85). EU нумерация Edelman также

представлена в Kabat *et al.* (1991) (см. выше). Таким образом, термины «индекс EU, представленный в работе Kabat», «индекс EU», «EU индекс Kabat» или «нумерация EU» в контексте тяжелой цепи относится к системе нумерации остатков, основанной на человеческом IgG1 EU антителе по Edelman *et al.*, как изложено в Kabat *et al.* (1991). Система нумерации, используемая для аминокислотной последовательности константной области легкой цепи, подобным образом изложена в Kabat *et al.* (см. выше). Таким образом, при использовании в настоящем документе, «пронумерован в соответствии с системой Kabat» относится к системе Kabat, изложенной в Kabat *et al.* (см. выше).

Антитела по изобретению и их антигенсвязывающие фрагменты могут быть получены из любого биологического вида рекомбинантными методами. Например, антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут представлять собой мышинные, крысиные, козьи, лошадиные, свиные, бычьи, куриные, кроличьи, верблюжьи, ослиные, человеческие или химерные варианты. Для применения при введении человеку антитела или антигенсвязывающие фрагменты нечеловеческого происхождения могут быть генетически или структурно изменены в направлении меньшей антигенности при введении пациенту-человеку.

Особенно предпочтительны человеческие или гуманизированные антитела, особенно в виде рекомбинантных человеческих или гуманизированных антител.

Термин «гуманизированные антитела» относится к антителам, в которых каркасные области или «области, определяющие комплементарность» (CDR) модифицированы так, что они содержат CDR иммуноглобулина другой специфичности по сравнению с родительским иммуноглобулином. Например, мышинные CDR могут быть привиты на каркасную область человеческого антитела с получением «гуманизированного антитела». См., например, Riechmann, L., et al., *Nature* 332 (1988) 323–327; и Neuberger, M.S., et al., *Nature* 314 (1985) 268–270. В некоторых воплощениях «гуманизированные антитела» представляют собой антитела, в которых константная область дополнительно модифицирована или изменена по сравнению с исходным антителом для создания свойств антител в соответствии с изобретением, в частности в отношении связывания C1q и/или связывания Fc-рецептора (FcR).

Термин «человеческое антитело» представляет собой антитело, обладающее аминокислотной последовательностью, которая соответствует последовательности

антитела, продуцируемого у человека, либо клетками человека, либо имеет происхождение не из человеческого источника, в которой используются последовательности, кодирующие репертуары человеческих антител или другие человеческие антитела. Из этого определения человеческого антитела конкретно исключено гуманизованное антитело, содержащее не человеческие антигенсвязывающие остатки. Человеческие антитела могут быть получены с использованием различных известных в данной области техники методов, включая библиотеки фагового дисплея.

Термин «химерное антитело» относится к антителу, содержащему варибельную область, т. е. связывающую область, из одного источника или биологического вида и по меньшей мере часть константной области, имеющей происхождение из другого источника или биологического вида, обычно полученному с помощью технологии рекомбинантных ДНК. Предпочтительными являются химерные антитела, содержащие мышиную варибельную область и человеческую константную область. Другие предпочтительные формы «химерных антител», охватываемые настоящим изобретением, представляют собой формы, в которых константная область модифицирована или изменена по сравнению с исходным антителом для создания свойств антител в соответствии с изобретением, особенно в отношении связывания С1q и/или связывания Fc-рецептора (FcR). Такие химерные антитела также называют «антителами с переключенным классом». Химерные антитела являются продуктом экспрессируемых генов иммуноглобулина, содержащих сегменты ДНК, кодирующие варибельные области иммуноглобулина, и сегменты ДНК, кодирующие константные области иммуноглобулина. Способы получения химерных антител, включающие традиционные технологии рекомбинантных ДНК и трансфекции генов, хорошо известны в данной области техники. См., например, Morrison, S.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 (1984) 6851–6855; патенты US 5202238 и 5204244.

Термины «Fc-область» и «Fc» в настоящем документе используются взаимозаменяемо и относятся к части нативного иммуноглобулина, образованной двумя цепями Fc. Каждая «Fc-цепь» содержит константный домен СН2 и константный домен СН3. Каждая Fc-цепь может также содержать шарнирную область. Нативная область Fc является гомодимерной. В некоторых воплощениях Fc-область может содержать модификации для усиления гетеродимеризации Fc.



Термин «Fc-часть» относится к части антитела по изобретению или его антигенсвязывающего фрагмента, соответствующей Fc-области.

Существует пять основных классов константной области тяжелой цепи, относящихся к IgA, IgG, IgD, IgE и IgM, каждый из которых имеет характеристические эффекторные функции, определяемые изотипом. Например, IgG разделяют на четыре подкласса, известных как IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Молекулы Ig взаимодействуют с многочисленными классами клеточных рецепторов. Например, молекулы IgG взаимодействуют с тремя классами рецепторов Fcγ (FcγR), специфичными к классу IgG антитела, и именно с FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Описано, что последовательности, важные для связывания IgG с рецепторами FcγR, локализованы в доменах CH2 и CH3.

Антитела по изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты могут относиться к любому изотипу, например IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и представлять собой синтетические мультимеры четырехцепочечной иммуноглобулиновой структуры (Ig). В предпочтительных воплощениях антитела или их антигенсвязывающие фрагменты относятся к изотипу IgG. Антитела или их антигенсвязывающие фрагменты могут относиться к любому подклассу IgG, например к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В предпочтительных воплощениях антитела или их антигенсвязывающие фрагменты относятся к изотипу IgG1.

В некоторых воплощениях антитела содержат константную область тяжелой цепи, которая имеет изотип IgG. В некоторых воплощениях антитела содержат часть константной области тяжелой цепи, которая имеет изотип IgG. В некоторых воплощениях константная область IgG или ее часть представляет собой константную область IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Предпочтительно, константная область IgG или ее часть представляет собой константную область IgG1.

Антитела по изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты могут содержать легкую лямбда-цепь или легкую каппа-цепь.

В предпочтительных воплощениях антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат легкую цепь, представляющую собой легкую каппа-цепь. В некоторых воплощениях антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую константную область легкой цепи (CL), представляющую собой константную область каппа.

В некоторых воплощениях антитело содержит легкую цепь, содержащую

вариабельную область легкой цепи (CL), представляющую собой вариабельную область каппа. Предпочтительно легкая каппа-цепь содержит VL, которая представляет собой каппа-VL, и CL, которая представляет собой каппа-CL.

Альтернативно антитела или их антигенсвязывающие фрагменты могут содержать легкую цепь, представляющую собой легкую лямбда-цепь. В некоторых воплощениях антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую константную область легкой цепи (CL), представляющую собой константную область лямбда. В некоторых воплощениях антитело содержит легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи (CL), представляющую собой вариабельную область лямбда.

Антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, сконструированные методами генной инженерии, включают такие, в которых выполнены модификации в каркасных остатках в пределах VH и/или VL. Такие модификации могут улучшать свойства антитела, например снижать иммуногенность антитела и/или улучшать продуцирование и очистку антитела.

Антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, раскрытые в настоящем документе, могут быть дополнительно модифицированы с использованием традиционных технологий, известных в данной области техники, например, с использованием делеции(й), вставки(вок), замен(ы), добавления(й) и/или рекомбинации(й) и/или любой(ых) другой(их) модификации(й), известной(ых) в данной области техники, отдельно или в комбинации. Методы введения таких модификаций в последовательность ДНК, кодирующую аминокислотную последовательность цепи иммуноглобулина, хорошо известны специалисту в данной области техники.

Антитела по изобретению и их антигенсвязывающие фрагменты также включают производные, которые модифицированы (например посредством ковалентного присоединения к антителу любого типа молекулы), так что ковалентное присоединение не препятствует связыванию антитела с его эпитопом или не ухудшает биологическую активность антитела иным образом. Примеры подходящих производных включают, без ограничения ими, фукозилированные антитела, гликозилированные антитела, ацетилированные антитела, пегилированные антитела, фосфорилированные антитела и амидированные антитела.

Незначительные изменения в аминокислотной последовательности антител по

изобретению рассматриваются как охватываемые настоящим изобретением при условии, что изменения аминокислотной(ых) последовательности(ей) сохраняют по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, и наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности с антителом по изобретению или его антигенсвязывающим фрагментом, как определено в других частях настоящего документа.

Антитела по изобретению могут включать варианты, в которых аминокислотные остатки из одного биологического вида заменены соответствующим остатком другого биологического вида, либо в консервативных, либо в неконсервативных положениях. В одном воплощении аминокислотные остатки в неконсервативных положениях заменены консервативными или неконсервативными остатками. В частности, рассматриваются консервативные замены аминокислот.

«Консервативная замена аминокислоты» представляет собой замену, при которой аминокислотный остаток заменен аминокислотным остатком, имеющим подобную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих подобные боковые цепи, определены в данной области техники, включая щелочные боковые цепи (например лизин, аргинин или гистидин), кислые боковые цепи (например аспарагиновая кислота или глутаминовая кислота), незаряженные полярные боковые цепи (например глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин или цистеин), неполярные боковые цепи (например аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин или триптофан), бета-разветвленные боковые цепи (например треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например тирозин, фенилаланин, триптофан или гистидин). Таким образом, если аминокислота в полипептиде заменена другой аминокислотой из того же семейства боковых цепей, эту замену аминокислоты считают консервативной. Включение консервативно модифицированных вариантов в антитела по изобретению не исключает других форм варианта, таких как полиморфные варианты, межвидовые гомологи и аллели.

«Неконсервативные замены аминокислот» включают замены, в которых (1) остаток, имеющий электроположительную боковую цепь (например Arg, His или Lys) заменен на электроотрицательный остаток (например Glu или Asp), (2) гидрофильный остаток (например Ser или Thr) заменен на гидрофильный остаток (например Ala, Leu,

Pe, Phe или Val), (3) цистеин или пролин заменен на любой другой остаток, либо (4) остаток, имеющий объемную гидрофобную или ароматическую боковую цепь (например Val, His, Pe или Trp) заменен на остаток, имеющий меньшую боковую цепь (например Ala или Ser) или не имеющий боковой цепи (например Gly), и наоборот.

### **Формат антитела**

Форматы мультиспецифических, например биспецифических антител известны в уровне техники. Например, форматы биспецифических антител описаны в Kontermann RE, mAbs 4:2 1–16 (2012); Holliger P., Hudson PJ, Nature Biotech. 23 (2005) 1126–1136, Chan AC, Carter PJ Nature Reviews Immunology 10, 301–316 (2010) и Cuesta AM *et al.*, Trends Biotech 28 (2011) 355–362.

Мультиспецифические, например биспецифические антитела по изобретению могут иметь любой формат. Форматы мультиспецифических и биспецифических антител включают, например, мультивалентные одноцепочечные антитела, диатела и триатела, и антитела, имеющие структуру константного домена полноразмерных антител, с которым дополнительные антигенсвязывающие домены (например одноцепочечный Fv, тандемный scFv, домен VH и/или домен VL, Fab или (Fab)<sub>2</sub>) связаны посредством одного или более пептидных линкеров, а также миметики антител, такие как DARPiны. В некоторых воплощениях мультиспецифические, например биспецифические антитела по изобретению имеют формат scFv, такой как биспецифический привлекающий T-клетки активатор (BiTE<sup>®</sup>). В некоторых воплощениях антитела по изобретению представляют собой одноцепочечные антитела, которые содержат первый домен, связывающийся с ВСМА, второй домен, связывающийся с T-клеточным антигеном (например CD3), и третий домен, содержащий два полипептидных мономера, каждый из которых содержит шарнирную область, домен CH2 и домен CH3, где два пептидных мономера слиты друг с другом посредством пептидного линкера (например (шарнир–CH2–CH3–линкер–шарнир–CH2–CH3)).

«Валентность» антитела означает число связывающих доменов. Как таковые термины «бивалентный», «трехвалентный» и «мультивалентный» означают наличие двух связывающих доменов, трех связывающих доменов и нескольких связывающих доменов соответственно. Мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению могут иметь более одного связывающего домена, способного

связываться с каждым антигеном-мишенью (т. е. антитело является трехвалентными или мультивалентными). В предпочтительных воплощениях мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению имеют более одного связывающего домена, способного связываться с одним и тем же эпитопом каждого антигена-мишени. В некоторых воплощениях мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению имеют более одного связывающего домена, способного связываться с разными эпитопами на каждом антигене-мишени.

Мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению могут быть бивалентными, трехвалентными или четырехвалентными. В предпочтительных воплощениях мультиспецифическое, например биспецифическое, антитело является трехвалентным, предпочтительно где трехвалентное антитело является бивалентным в отношении ВСМА. Так, биспецифическое антитело может быть трехвалентным, где трехвалентное антитело является двухвалентным в отношении ВСМА.

Мультиспецифические, например биспецифические антитела могут быть полноразмерными от одного биологического вида, либо могут быть химерными или гуманизированными. Для антитела с более чем двумя антиген-связывающими доменами некоторые связывающие домены могут быть идентичными, если белок имеет связывающие домены для двух разных антигенов.

Мультиспецифические, например биспецифические антитела по изобретению могут иметь биспецифический гетеродимерный формат. В некоторых воплощениях биспецифическое антитело содержит две разные тяжелые цепи и две разные легкие цепи. В других воплощениях мультиспецифическое, например биспецифическое, антитело содержит две идентичные легкие цепи и две разные тяжелые цепи. В некоторых воплощениях в мультиспецифических, например биспецифических, антителах по изобретению одна из двух пар тяжелой цепи и легкой цепи (НС/LC) специфично связывается с CD3, а другая специфично связывается с ВСМА.

В воплощениях, в которых биспецифические антитела по изобретению являются бивалентными, они могут содержать одно антитело к ВСМА и одно антитело к CD3 (в настоящем документе упоминаемое как формат «1+1»).

В воплощениях, в которых антитела к ВСМА и к CD3 представляют собой Fab, бивалентные биспецифические антитела в формате 1+1 могут иметь формат: CD3 Fab –

BCMA Fab (т. е. когда Fc отсутствует). Альтернативно, биспецифические антитела могут иметь формат: Fc – CD3 Fab – BCMA Fab; Fc – BCMA Fab – CD3 Fab; или BCMA Fab – Fc – CD3 Fab (т. е. когда Fc присутствует). В предпочтительных воплощениях бивалентные биспецифические антитела имеют формат BCMA Fab – Fc – CD3 Fab.

«CD3 Fab – BCMA Fab» означает, что CD3 Fab связан посредством его N-конца с C-концом BCMA Fab.

«Fc – BCMA Fab – CD3 Fab» означает, что BCMA Fab связан посредством его C-конца с N-концом Fc, и CD3 Fab связан посредством его C-конца с N-концом BCMA Fab.

«Fc – CD3 Fab – BCMA Fab» означает, что CD3 Fab связан посредством его C-конца с N-концом Fc, и BCMA Fab связан посредством его C-конца с N-концом CD3 Fab.

«BCMA Fab – Fc – CD3 Fab» означает, что Fab-фрагменты BCMA и CD3 связываются посредством их C-концов с N-концом Fc.

В воплощениях, в которых биспецифические антитела по изобретению являются трехвалентными, они могут содержать два антитела к BCMA и одно антитело к CD3 (в настоящем документе упоминается как формат «2+1»).

В воплощениях, в которых антитела к BCMA и к CD3 представляют собой Fab, трехвалентные биспецифические антитела в формате 2+1 могут иметь формат: CD3 Fab – BCMA Fab – BCMA Fab; или BCMA Fab – CD3 Fab – BCMA Fab (т. е. когда Fc отсутствует). Альтернативно биспецифические антитела могут иметь формат: BCMA Fab – Fc – CD3 Fab – BCMA Fab; BCMA Fab – Fc – BCMA Fab – CD3 Fab; или CD3 Fab – Fc – BCMA Fab – BCMA Fab (т. е. когда Fc присутствует). В предпочтительных воплощениях трехвалентное биспецифическое антитело имеет формат BCMA Fab – Fc – CD3 Fab – BCMA Fab.

«CD3 Fab – BCMA Fab – BCMA Fab» означает, что CD3 Fab связан посредством его C-конца с N-концом первого BCMA Fab, и первый BCMA Fab связан посредством его C-конца с N-концом второго BCMA Fab.

«BCMA Fab – CD3 Fab – BCMA Fab» означает, что первый BCMA Fab связан посредством его C-конца с N-концом первого CD3 Fab, и CD3 Fab связан посредством его C-конца с N-концом второго BCMA Fab.

«BCMA Fab – Fc – CD3 Fab – BCMA Fab» означает, что первый BCMA Fab и CD3 Fab связаны посредством их C-концов с N-концом Fc, и второй BCMA Fab связан посредством его C-конца с N-концом CD3 Fab.

«BCMA Fab – Fc – BCMA Fab – CD3 Fab» означает, что первый BCMA Fab и второй BCMA Fab связаны посредством их С-концов с N-концом Fc, и CD3 Fab связан посредством его С-конца с N-концом второго BCMA Fab.

«CD3 Fab – Fc – BCMA Fab – BCMA Fab» означает, что CD3 Fab и первый BCMA Fab связаны посредством их С-концов с N-концом Fc, и второй BCMA Fab связан посредством его С-конца с N-концом первого BCMA Fab.

В некоторых воплощениях биспецифические антитела по изобретению могут содержать не более одного BCMA Fab, специфично связывающегося с BCMA, и не более одного CD3 Fab, специфично связывающегося с CD3, и не более одной Fc-части.

В некоторых воплощениях биспецифическое антитело содержит не более одного CD3 Fab, специфично связывающегося с CD3, не более двух BCMA Fab, специфично связывающихся с BCMA, и не более одной Fc-части. В некоторых воплощениях не более одного CD3 Fab и не более одного BCMA Fab связаны с Fc-частью, и связывание осуществляется посредством С-концевого связывания Fab-фрагмента(ов) с шарнирной областью Fc-части. В некоторых воплощениях второй BCMA Fab связан посредством его С-конца либо с N-концом CD3 Fab, либо с шарнирной областью Fc части и, таким образом, находится между Fc-частью биспецифического антитела и CD3 Fab.

В воплощениях, содержащих два BCMA Fab, эти BCMA Fab предпочтительно имеют происхождение от одного и того же антитела и предпочтительно идентичны по последовательностям CDR, последовательностям переменных доменов VH и VL и/или последовательностям константных доменов CH1 и CL. Предпочтительно аминокислотные последовательности двух BCMA Fab идентичны.

Биспецифические антитела по изобретению могут также содержать scFv-фрагменты вместо Fab-фрагментов. Таким образом, в некоторых воплощениях биспецифические антитела имеют любой из вышеописанных форматов, где каждый Fab заменен соответствующим scFv.

Компоненты, например Fab-фрагменты, биспецифических антител по изобретению могут быть связаны вместе химическими связями с использованием подходящего линкера в соответствии с уровнем техники. В предпочтительных воплощениях используют линкер (Gly4-Ser1)<sub>2</sub> (Desplancq DK et al., Protein Eng. 1994 Aug;7(8):1027–33 и Mack M. et al., PNAS July 18, 1995 vol. 92 no. 15 7021–7025). Термин «связаны химической связью» (или «связаны») при использовании в настоящем

документе означает, что компоненты связаны посредством ковалентного связывания. Так как линкер представляет собой пептидный линкер, такое ковалентное связывание осуществляется посредством биохимических рекомбинантных методов. Например, связывание может осуществляться с использованием нуклеиновой кислоты, кодирующей домены VL и/или VH соответствующих Fab-фрагментов, линкер и цепь Fc-части, если антитело содержит Fc.

В случае использования линкера этот линкер может иметь длину и последовательность, достаточные, чтобы обеспечить сохранение каждым из первого и второго доменов, независимо друг от друга, их различных специфичностей связывания.

#### *Последовательности антител*

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий область CDR3H с SEQ ID NO:17 и область CDR3L с SEQ ID NO:20 и комбинацию областей CDR1H, CDR2H, CDR1L и CDR2L, выбранную из группы

а) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:23 и область CDR2L с SEQ ID NO:24,

б) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:25 и область CDR2L с SEQ ID NO:26,

в) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:27 и область CDR2L с SEQ ID NO:28,

г) область CDR1H с SEQ ID NO:29 и область CDR2H с SEQ ID NO:30, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32,

д) область CDR1H с SEQ ID NO:34 и область CDR2H с SEQ ID NO:35, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32,

е) область CDR1H с SEQ ID NO:36 и область CDR2H с SEQ ID NO:37, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32, и

ж) область CDR1H с SEQ ID NO:15 и область CDR2H с SEQ ID NO:16, область CDR1L с SEQ ID NO:18 и область CDR2L с SEQ ID NO:19.

В предпочтительных воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий область VH, содержащую область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22 и область CDR3H с SEQ ID NO:17, и область VL,



содержащую область CDR3L с SEQ ID NO:20 и комбинацию областей CDR1L и CDR2L, выбранную из группы:

- 1) область CDR1L с SEQ ID NO:27 и область CDR2L с SEQ ID NO:28;
- 2) область CDR1L с SEQ ID NO:23 и область CDR2L с SEQ ID NO:24; или
- 3) область CDR1L с SEQ ID NO:25 и область CDR2L с SEQ ID NO:26.

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH, содержащую область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22 и область CDR3H с SEQ ID NO:17, и область VL, содержащую область CDR1L с SEQ ID NO:27, область CDR2L с SEQ ID NO:28 и область CDR3L с SEQ ID NO:20.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие VH и VL, выбранные из группы, состоящей из:

- а) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:12,
- б) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:13,
- в) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14,
- г) область VH с SEQ ID NO:38 и область VL с SEQ ID NO:12,
- д) область VH с SEQ ID NO:39 и область VL с SEQ ID NO:12,
- е) область VH с SEQ ID NO:40 и область VL с SEQ ID NO:12, или
- ж) область VH с SEQ ID NO:9 и область VL с SEQ ID NO:11.

В особенно предпочтительных воплощениях антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент содержит область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO: 14.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент.

Примеры антител к CD3 включают ОКТ3, TR66, АРА 1/1, SP34, CH2527, WT31, 7D6, UCHL-1, Leu-4, BC-3, H2C, HuM291 (визилизумаб), Hu291 (PDL), ChAglyCD3 (отеликсизумаб), hОКТ3 $\gamma$ 1(Ala-Ala) (теплизумаб) и NI-0401 (форалумаб).

Первым созданным антителом к CD3 было ОКТ3 (муромонаб-CD3), мышинное антитело, связывающееся с доменом CD3 $\epsilon$ . Последующие антитела к CD3 включают гуманизированные или человеческие антитела и антитела, сконструированные методами

генной инженерии, например антитела, содержащие модифицированные Fc-области.

Антитела к CD3 могут распознавать эпитоп на одной полипептидной цепи, например APA 1/1 или SP34 (Yang SJ, *The Journal of Immunology* (1986) 137; 1097–1100), или конформационный эпитоп, расположенный на двух или более субъединицах CD3, например WT31, 7D6, UCNT-1 (см. WO2000041474) и Leu-4. Клинические исследования проведены с использованием нескольких антител к CD3, включая BC-3 (Anasetti et al., *Transplantation* 54: 844 (1992) и H2C (WO2008119567A2). Антитела к CD3 в клинической разработке включают HuM291 (визилизумаб) (Norman et al., *Transplantation*. 2000 Dec 27;70(12):1707–12.) Hu291 (PDL), ChAglyCD3 (отеликсизумаб) (H Waldmann), hОКТ3 $\gamma$ 1(Ala-Ala) (теплизумаб) (J Bluestone и Johnson and Johnson) и (NI-0401) форалумаб.

Любое антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент могут подходить для использования в мультиспецифических (например биспецифических) антителах по настоящему изобретению. Например, мультиспецифические (например биспецифические) антитела могут включать антитело к CD3, выбранное из ОКТ3, TR66, APA 1/1, SP34, CH2527, WT31, 7D6, UCNT-1, Leu-4, BC-3, H2C, HuM291 (визилизумаб), Hu291 (PDL), ChAglyCD3 (отеликсизумаб), hОКТ3 $\gamma$ 1(Ala-Ala) (теплизумаб) и NI-0401 (форалумаб). В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело по изобретению включает гуманизированное антитело к SP34 или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых предпочтительных воплощениях антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент могут иметь происхождение от SP34 и могут иметь подобные последовательности или такие же свойства в отношении связывания эпитопа, что и антитело SP34.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменную область VH, содержащую CDR тяжелой цепи с SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно CDR1H, CDR2H и CDR3H, и переменную область VL, содержащую CDR легкой цепи с SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно CDR1L, CDR2L и CDR3L легкой цепи. В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменные домены с SEQ ID NO:7 (VH) и SEQ ID NO:8 (VL).

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий область CDR3H с SEQ ID NO:17 и область CDR3L с SEQ ID NO:20 и комбинацию областей CDR1H, CDR2H, CDR1L и CDR2L, выбранную из группы:

а) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:23 и область CDR2L с SEQ ID NO:24,

б) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:25 и область CDR2L с SEQ ID NO:26,

в) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:27 и область CDR2L с SEQ ID NO:28,

г) область CDR1H с SEQ ID NO:29 и область CDR2H с SEQ ID NO:30, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32,

д) область CDR1H с SEQ ID NO:34 и область CDR2H с SEQ ID NO:35, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32,

е) область CDR1H с SEQ ID NO:36 и область CDR2H с SEQ ID NO:37, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32, и

ж) область CDR1H с SEQ ID NO:15 и область CDR2H с SEQ ID NO:16, область CDR1L с SEQ ID NO:18 и область CDR2L с SEQ ID NO:19, и

антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область CDR1H с SEQ ID NO:1, область CDR2H с SEQ ID NO:2 и область CDR3H с SEQ ID NO:3, и область CDR1L с SEQ ID NO:4, область CDR2L с SEQ ID NO:5 и область CDR3L с SEQ ID NO:6.

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает:

антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH, содержащую область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22 и область CDR3H с SEQ ID NO:17, и область VL, содержащую область CDR1L с SEQ ID NO:27, область CDR2L с SEQ ID NO:28 и область CDR3L с SEQ ID NO:20; и

антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область CDR1H с SEQ ID NO:1, область CDR2H с SEQ ID NO:2 и область CDR3H с SEQ ID NO:3, и область CDR1L с SEQ ID NO:4, область CDR2L с SEQ ID NO:5 и область CDR3L с SEQ ID NO:6.

В некоторых воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие VH и VL, выбранные из группы, состоящей из:

- а) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:12,
- б) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:13,
- в) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14,
- г) область VH с SEQ ID NO:38 и область VL с SEQ ID NO:12,
- д) область VH с SEQ ID NO:39 и область VL с SEQ ID NO:12,
- е) область VH с SEQ ID NO:40 и область VL с SEQ ID NO:12, и

антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH с SEQ ID NO:7 и область VL с SEQ ID NO: 8.

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифическое (например биспецифическое) антитело включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO: 14, и антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH с SEQ ID NO:7 и область VL с SEQ ID NO: 8.

### **Fc**

Мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению могут иметь Fc или могут не иметь Fc. В предпочтительных воплощениях мультиспецифические антитела по изобретению содержат Fc, предпочтительно человеческую Fc.

В некоторых воплощениях Fc представляет собой вариант Fc, например последовательность Fc, которая была модифицирована (например посредством замены, делеции и/или вставки аминокислоты) относительно родительской последовательности Fc (например немодифицированного полипептида Fc, который был впоследствии модифицирован для создания варианта) с получением требуемых структурных признаков и/или биологической активности,

Соответственно, мультиспецифические антитела, например биспецифические антитела, по изобретению могут содержать Fc, содержащую одну или более модификаций, как правило, с изменением одного или более функциональных свойств антитела, таких как период полувыведения из сыворотки крови, фиксация комплемента, связывание рецептора Fc и/или антиген-зависимая клеточная цитотоксичность. В

антителах по изобретению Fc может быть связана с Fab-фрагментами антитела к ВСМА и/или к CD3.

Преимущество наличия Fc состоит в увеличении периода полувыведения антитела. Антитела, например биспецифические антитела, по изобретению могут иметь период полувыведения у мышей или яванских макак, предпочтительно яванских макак, более 12 часов, предпочтительно 3 суток или более. В некоторых воплощениях антитела, например биспецифические антитела, по изобретению имеют период полувыведения от примерно 1 до 12 дней, что позволяет вводить их по меньшей мере один раз или два раза в неделю.

### ***Сниженная эффекторная функция***

Предпочтительно биспецифические антитела по изобретению содержат область Fc (например подкласс IgG1), которая содержит модификации, чтобы избежать связывания FcR и C1q и минимизировать ADCC/CDC. Это обеспечивает преимущество, состоящее в том, что биспецифические антитела опосредуют свою эффективность в уничтожении опухолевых клеток исключительно за счет сильного механизма перенаправления/активации эффекторной клетки, например Т-клетки. Таким образом избегают дополнительных механизмов действия, таких как воздействия на систему комплемента и на эффекторные клетки, экспрессирующие FcR, и снижают риск побочных эффектов, таких как инфузионные реакции.

В предпочтительных воплощениях антитела, например биспецифические антитела, по изобретению содержат IgG, в частности IgG1, область Fc, содержащую модификации L234A, L235A и P329G (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU).

### ***Гетеродимеризация***

Мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению могут представлять собой гетеродимерные антитела. Такие гетеродимерные антитела могут содержать модификации в областях, вовлеченных во взаимодействия между цепями антитела, чтобы стимулировать правильную сборку антител.

Например, биспецифические антитела по изобретению могут содержать Fc, имеющую одну или более модификаций в домене CH2 и CH3 для форсирования гетеродимеризации Fc. Альтернативно или дополнительно биспецифические антитела по изобретению могут содержать модификации в области CH1 и CL для стимуляции преимущественного спаривания между тяжелой цепью и легкой цепью Fab-фрагмента.

Существует ряд стратегий стимуляции гетеродимеризации. Эти стратегии могут включать введение асимметрических комплементарных модификаций в каждую из двух цепей антитела, так что обе цепи совместимы друг с другом и, следовательно, способны образовать гетеродимер, но каждая цепь неспособна димеризоваться сама с собой. Такие модификации могут охватывать вставки, делеции, консервативные и неконсервативные замены и перегруппировки.

Гетеродимеризацию может стимулировать введение заряженных остатков для создания благоприятных электростатических взаимодействий между первой цепью антитела и второй цепью антитела. Например, в первую цепь антитела можно вводить одну или более положительно заряженных аминокислот, и в соответствующие положения второй цепи антитела можно вводить одну или более отрицательно заряженных аминокислот

Альтернативно или дополнительно, гетеродимеризацию можно стимулировать путем введения стерического затруднения между контактирующими остатками. Например, в первую цепь антитела можно вводить один или более остатков с объемной боковой цепью, и во вторую цепь можно вводить один или более остатков, способных приспособиваться к объемной боковой цепи.

Альтернативно или дополнительно, гетеродимеризацию можно стимулировать путем введения одной или более модификаций в гидрофильные и гидрофобные остатки на границе между цепями, чтобы сделать образование гетеродимера энтропийно и энтальпийно более выгодным по сравнению с гомодимером.

Дополнительная стратегия стимулирования гетеродимеризации состоит в перегруппировке частей цепей антитела таким образом, чтобы каждая цепь сохраняла совместимость только с цепью, содержащей соответствующие перегруппировки. Например, технология CrossMAb основана на кроссинговере доменов антитела для обеспечения правильного ассоциирования цепей. Существует три основных формата CrossMAb, представляющих собой: (1) CrossMAb<sup>Fab</sup>, в котором обмениваются VH и VL и обмениваются CH1 и CL; (2) CrossMAb<sup>VH-VL</sup>, в котором обмениваются VH и VL; и (3) CrossMAb<sup>CH1-CL</sup>, в котором обмениваются CH1 и CL (Klein et al., 2016. MABS, 8(6):1010–1020).

В некоторых воплощениях биспецифические антитела по изобретению могут включать обмен VH и VL. В некоторых воплощениях антитела, например

биспецифические антитела, по изобретению могут включать обмен CH1 и CL. В некоторых воплощениях антитела, например биспецифические антитела, по изобретению могут включать обмен VL и VL и обмен CH1 и CL.

В предпочтительных воплощениях антитела, например биспецифические антитела, по изобретению включают обмен VH и VL.

Другие подходы к стимулированию гетеродимеризации включают использование домена, сконструированного посредством обмена между цепями (strand exchange engineered domain, SEED) (Davis et al., 2010. Protein Eng Des Sel, 23 (4); 195–202).

Чтобы максимально повысить эффективность сборки при минимизации влияния на стабильность антитела можно использовать комбинацию вышеописанных стратегий.

### *Гетеродимеризация Fc*

В некоторых воплощениях мультиспецифические антитела, например биспецифические антитела, по изобретению могут иметь гетеродимерную Fc, например они могут содержать одну тяжелую цепь, имеющую происхождение из антитела к ВСМА, и одну тяжелую цепь, имеющую происхождение из антитела к CD3.

Антитела, например биспецифические антитела, по изобретению могут содержать гетеродимерную Fc, содержащую одну или более модификаций, которые стимулируют ассоциацию первого домена CH2 и/или CH3 со вторым доменом CH2 и/или CH3. В предпочтительных воплощениях одна или более модификаций стимулируют ассоциацию первого домена CH3 со вторым доменом CH3, например в результате асимметрических модификаций в домене CH3. Одна или более модификаций могут включать модификации, выбранные из вставок, делеций, консервативных и неконсервативных замен и перегруппировок аминокислот, а также их комбинации.

Как правило, первый домен CH3 и второй домен CH3, оба сконструированы комплементарно, так что каждый домен CH3 (или содержащая его тяжелая цепь) больше не может образовать гомодимер с самим собой, но вынужден гетеродимеризоваться с другим комплементарно сконструированным доменом CH3 (так что первый и второй домен CH3 гетеродимеризуются и не образуются гомодимеры между двумя первым и двумя вторым доменами CH3).

Мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению могут содержать Fc, имеющие одну или более модификаций «выступ во впадину», которые подробно описаны с несколькими примерами, например, в WO 96/027011,

Ridgway, J.B., et al., *Protein Eng.* 9 (1996) 617–621, Merchant, A.M. et al., *Nat. Biotechnol.* 16 (1998) 677–68 и WO 98/050431.

В этом способе поверхности взаимодействия двух доменов СНЗ изменены так, что увеличивается гетеродимеризация обеих цепей Fc, содержащих эти два домена СНЗ. Один из двух доменов СНЗ (из двух Fc-цепей) может представлять собой «выступ», и другой представляет собой «впадину».

Соответственно, биспецифические антитела по изобретению могут содержать два домена СНЗ, где каждый первый домен СНЗ первой Fc-цепи и каждый второй домен СНЗ второй Fc-цепи встречаются на границе, которая включает исходную границу между доменами СНЗ антитела, где указанная граница изменена так, чтобы стимулировать образование антитела.

В некоторых воплощениях:

(1) домен СНЗ одной Fc-цепи изменен так, что в пределах исходной границы домена СНЗ одной Fc-цепи, которая встречается с исходной границей домена СНЗ другой Fc-цепи, аминокислотный остаток заменен аминокислотным остатком, имеющим больший объем боковой цепи, тем самым создавая выступающую часть в пределах границы домена СНЗ одной Fc-цепи, которая может быть расположена в полости в пределах границы домена СНЗ другой Fc-цепи; и

(2) домен СНЗ другой Fc-цепи изменен так, что в пределах исходной границы домена СНЗ другой Fc-цепи, которая встречается с исходной границей домена СНЗ одной Fc-цепи, аминокислотный остаток заменен аминокислотным остатком, имеющим меньший объем боковой цепи, что создает полость в пределах границы домена СНЗ другой Fc-цепи, в которой может быть расположена выступающая часть в пределах границы домена СНЗ одной Fc-цепи.

Предпочтительно, указанный аминокислотный остаток, имеющий больший объем боковой цепи, выбран из группы, состоящей из аргинина (R), фенилаланина (F), тирозина (Y), триптофана (W).

В некоторых воплощениях мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий модификацию(и) в положениях T366, L368 и Y407, например T366S, L368A и Y407V (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU).

В некоторых воплощениях мультиспецифические, например биспецифические,



антитела по изобретению содержат второй домен СНЗ, содержащий модификацию в положении Т366 (модификация в виде выступа), например Т366W (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU).

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий модификации Т366S, L368A и Y407V или их консервативные замены, и второй домен СНЗ, содержащий модификацию Т366W или ее консервативную замену (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU).

В одном воплощении мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий модификацию, представленную в таблице 12, и второй домен СНЗ, содержащий модификации, представленные в таблице 12.

**Таблица 12: Модификация «выступ во впадину»**

Первый домен СНЗ		Второй домен СНЗ	
По Kabat	Нумерация EU	По Kabat	Нумерация EU
T389S	T366S	T389W	T366W
L391A	L368A		
Y438V	Y407V		

Другие методы модификаций СНЗ для обеспечения гетеродимеризации рассматриваются как альтернативы изобретения и описаны, например, в WO96/27011, WO98/050431, EP1870459, WO2007/110205, WO2007/147901, WO2009/089004, WO2010/129304, WO2011/90754, WO2011/143545, WO2012/058768, WO2013/157954, WO2013/157953 и WO2013/096291.

В некоторых воплощениях биспецифическое антитело в соответствии с изобретением имеет изотип IgG2, и можно использовать гетеродимеризационный подход, который описан в WO2010/129304.

#### ***Другие модификации Fc***

В некоторых воплощениях биспецифические антитела по изобретению могут содержать Fc, в которой оба домена СНЗ изменены путем введения цистеина (C) в качестве аминокислоты в соответствующих положениях домена СНЗ так, чтобы между

обоими доменами СНЗ могла образоваться дисульфидная связь. Цистеины можно вводить в положении 349 в одном из доменов СНЗ и в положении 354 в другом домене СНЗ (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU).

Предпочтительно цистеин, введенный в положении 354, находится в первом домене СНЗ, и цистеин, введенный в положении 349, находится во втором домене СНЗ (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU).

Fc может содержать модификации, такие как D356E, L358M, N384S, K392N, V397M и V422I (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU). Предпочтительно оба домена СНЗ содержат D356E и L358M (нумерация в соответствии с системой нумерации EU).

### *Гетеродимеризация легкой и тяжелой цепи*

В мультиспецифических, например биспецифических, антителах по изобретению одна или более тяжелых цепей и легких цепей иммуноглобулина может содержать одну или более модификаций, например модификаций аминокислот, которые способны стимулировать преимущественное спаривание конкретной тяжелой цепи с конкретной легкой цепью при коэкспрессии и совместном продуцировании тяжелых цепей и легких цепей. Такие модификации могут обеспечивать значительно улучшенные продуцирование/очистку без изменения биологических свойств, таких как связывание с ВСМА. В частности, в результате введения одной или более модификаций, таких как обмена аминокислот, можно значимо уменьшить ошибочное спаривание легких цепей и образование побочных продуктов при продуцировании, и, следовательно, увеличить выход и облегчить очистку.

Обмены аминокислот могут представлять собой замены заряженных аминокислот с противоположными зарядами (например на границе CH1/CL), которые уменьшают ошибочное спаривание легких цепей, например побочные продукты типа Бенс-Джонса.

В предпочтительных воплощениях одна или более модификаций, способствующих гетеродимеризации легкой и тяжелой цепи, представляют собой модификации аминокислот в легких и тяжелых цепях за пределами CDR.

Одна или более модификаций может присутствовать в антителе к ВСМА или его антигенсвязывающем фрагменте. Альтернативно, одна или более модификаций может присутствовать в антителе к CD3 или его антигенсвязывающем фрагменте. В предпочтительном воплощении одна или более модификаций присутствует в антителе к

ВСМА или его антигенсвязывающем фрагменте.

В некоторых воплощениях мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению содержат тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую домен СН1, имеющий аминокислотные модификации К147Е/Д и К213Е/Д (пронумерованы в соответствии с системой нумерации ЕU), и соответствующую легкую цепь иммуноглобулина, содержащую домен СL, имеющий аминокислотные модификации Е123К/Р/Н и Q124К/Р/Н (нумерация согласно Kabat). Предпочтительно домен СН1 содержит аминокислотные модификации К147Е и К213Е (пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕU) или их консервативные замены, и соответствующий домен СL содержит аминокислотные модификации Е123Р и Q124К или их консервативные замены (нумерация по Kabat). Такие мультиспецифические, например биспецифические, антитела можно получать с высоким выходом и легко очищать.

В одном воплощении модификации аминокислот, описанные в таблице 13, могут находиться в антителе к ВСМА или в антителе к CD3.

В одном воплощении биспецифические антитела по изобретению являются бивалентными и включают одно антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент и одно антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (формат «1+1»), где:

(а) антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент (например ВСМА Fab) содержит домен СН1, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13, и соответствующий домен СL, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13; или

(б) антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (например CD3 Fab) содержит домен СН1, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13, и соответствующий домен СL, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13.

В одном воплощении биспецифические антитела по изобретению являются трехвалентными и включают два антитела к ВСМА или их антигенсвязывающие фрагменты и одно антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (формат «2+1»), где:

(а) одно или более антител к ВСМА или его антигенсвязывающих фрагментов (например ВСМА Fab) содержит домен СН1, имеющий модификации аминокислот,

представленные в таблице 13, и соответствующий домен CL, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13; или

(б) антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (например CD3 Fab) содержит домен CH1, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13, и соответствующий домен CL, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13.

В частности, каждое антитело к ВСМА (например ВСМА Fab) может содержать домен CH1, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13, и соответствующий домен CL, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13.

**Таблица 13: Модификации для гетеродимеризации легкой и тяжелой цепи**

Домен CH1		Домен CL	
По Kabat	Нумерация EU	По Kabat	Нумерация EU
K145E	K147E	E123R	E123R
K221E	K213E	Q124K	Q124K

В предпочтительном воплощении мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению содержат модификации, представленные в таблице 13, в комбинации с модификациями, представленными в таблице 12. Таким образом, в одном воплощении биспецифические антитела по изобретению являются бивалентными и включают:

(а) одно антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент и одно антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (формат «1+1»), где (1) антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент (например ВСМА Fab) содержат домен CH1, содержащий модификации аминокислот K147E и K213E, и соответствующий домен CL, содержащий модификации аминокислот E123R и Q124K (т. е. модификации, представленные в таблице 13), или (2) антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (например CD3 Fab), содержащие домен CH1, содержащий модификации аминокислот K147E и K213E, и соответствующий домен CL, содержащий модификации аминокислот E123R и Q124K (т. е. модификации, представленные в таблице 13); и

(б) первый домен CH3, содержащий модификации T366S, L368A и Y407V, и второй домен CH3, содержащий модификации T366W (т. е. модификации,

представленные в таблице 12).

В одном воплощении биспецифические антитела по изобретению являются трехвалентными и включают:

(а) два антитела к ВСМА или их антигенсвязывающие фрагменты и одно антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (формат «2+1»), где (1) одно или оба антитела к ВСМА или их антигенсвязывающие фрагменты (например ВСМА Fab) содержат домен СН1, содержащий модификации аминокислот К147Е и К213Е, и соответствующий домен СL, содержащий модификации аминокислот Е123R и Q124K (т. е. модификации, представленные в таблице 13), или (2) антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (например CD3 Fab) содержат домен СН1, содержащий модификации аминокислот К147Е и К213Е, и соответствующий домен СL, содержащий модификации аминокислот Е123R и Q124K (т. е. модификации, представленные в таблице 13); и

(б) первый домен СН3, содержащий модификации Т366S, L368А и Y407V, и второй домен СН3, содержащий модификации Т366W (т. е. модификации, представленные в таблице 12).

В частности, каждое антитело к ВСМА (например ВСМА Fab) может содержать домен СН1, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13, и соответствующий домен СL, имеющий модификации аминокислот, представленные в таблице 13. В предпочтительных воплощениях первая Fc-цепь связана на N-конце Fc с C-концом первого антитела к ВСМА, и вторая Fc-цепь связана на N-конце Fc с C-концом антитела к CD3.

Мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению могут дополнительно содержать замену аминокислоты в положении 49 области VL, выбранную из группы аминокислот: тирозин (Y), глутаминовая кислота (E), серин (S) и гистидин (H), и/или замену аминокислоты в положении 74 области VL, которая представляет собой треонин (T) или аланин (A).

### ***CrossMab***

Мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению могут включать технологию CrossMab. Технология CrossMab основана на кроссинговере доменов антитела для обеспечения правильного ассоциирования цепей. Ее используют для облегчения образования мультиспецифических антител. Существует

три основных формата CrossMAb, представляющих собой: (1) CrossMAb<sup>Fab</sup>, в котором обмениваются VH и VL и обмениваются CH1 и CL; (2) CrossMAb<sup>VH-VL</sup>, в котором обмениваются VH и VL; и (3) CrossMAb<sup>CH1-CL</sup>, в котором обмениваются CH1 и CL (Klein et al., 2016. MABS, 8(6):1010–1020).

Технология CrossMAb известна в уровне техники. Биспецифические антитела, где переменные домены VL и VH или константные домены CL и CH1 заменены друг другом, описаны в WO2009080251 и WO2009080252.

В одном или более антител или антигенсвязывающих фрагментов в рамках мультиспецифических, например биспецифических, антител по изобретению переменные домены VL и VH или константные домены CL и CH1 могут быть заменены друг другом. В некоторых воплощениях антитела, например биспецифические антитела, по изобретению могут содержать обмен VL и VL и обмен CH1 и CL. Таким образом, мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению могут содержать легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, и тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера. При использовании в настоящем документе «легкая цепь, образованная в результате кроссинговера» представляет собой легкую цепь, которая может содержать VH–CL, VL–CH1 или VH–CH1. При использовании в настоящем документе «тяжелая цепь, образованная в результате кроссинговера» представляет собой тяжелую цепь, которая может содержать VL–CH1, VH–CL или VL–CL.

В некоторых аспектах предложено мультиспецифическое, например биспецифическое, антитело, включающее в себя антитело к ВСМА по изобретению или его антигенсвязывающий фрагмент, и антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, где мультиспецифическое, например биспецифическое, антитело содержит:

- (а) легкую цепь и тяжелую цепь антитела, специфично связывающегося с CD3; и
- (б) легкую цепь и тяжелую цепь антитела, специфично связывающегося с ВСМА, где переменные домены VL и VH или константные домены CL и CH1 заменены друг другом в (1) антителе к ВСМА; и/или (2) антителе к CD3.

В некоторых воплощениях переменные домены VL и VH или константные домены CL и CH1 антитела к CD3 или его антигенсвязывающего фрагмента заменены друг другом. Более предпочтительно переменные домены VL и VH антитела к CD3 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента заменены друг другом.

В воплощениях, в которых биспецифические антитела в формате 1+1 имеют формат: CD3 Fab – BCMA Fab (т. е. когда Fc отсутствует); Fc – CD3 Fab – BCMA Fab; Fc – BCMA Fab – CD3 Fab; или BCMA Fab – Fc – CD3 Fab, биспецифические антитела могут включать формат CrossMAb, например CrossMAb<sup>Fab</sup>, CrossMAb<sup>VH-VL</sup> или CrossMAb<sup>CH1-CL</sup>. BCMA Fab может иметь формат CrossMAb, например CrossMAb<sup>Fab</sup>, CrossMAb<sup>VH-VL</sup> или CrossMAb<sup>CH1-CL</sup>. Альтернативно, CD3 Fab может иметь формат CrossMAb, например CrossMAb<sup>Fab</sup>, CrossMAb<sup>VH-VL</sup> или CrossMAb<sup>CH1-CL</sup>. В предпочтительном воплощении CD3 Fab биспецифического антитела включает формат CrossMAb<sup>VH-VL</sup>.

Для биспецифических антител по изобретению, имеющих формат 2+1, особенно предпочтительно включать технологию CrossMAb. Таким образом, в воплощениях, в которых трехвалентные биспецифические антитела в формате 2+1 имеют формат: CD3 Fab – BCMA Fab – BCMA Fab; BCMA Fab – CD3 Fab – BCMA Fab (т. е. когда Fc отсутствует); BCMA Fab – Fc – CD3 Fab – BCMA Fab; BCMA Fab – Fc – BCMA Fab – CD3 Fab; или CD3 Fab – Fc – BCMA Fab – BCMA Fab, биспецифические антитела могут включать формат CrossMAb, например CrossMAb<sup>Fab</sup>, CrossMAb<sup>VH-VL</sup> или CrossMAb<sup>CH1-CL</sup>. BCMA Fab может иметь формат CrossMAb, например CrossMAb<sup>Fab</sup>, CrossMAb<sup>VH-VL</sup> или CrossMAb<sup>CH1-CL</sup>. Альтернативно, CD3 Fab может иметь формат CrossMAb, например CrossMAb<sup>Fab</sup>, CrossMAb<sup>VH-VL</sup> или CrossMAb<sup>CH1-CL</sup>. В предпочтительном воплощении CD3 Fab биспецифического антитела включает формат CrossMAb<sup>VH-VL</sup>.

В некоторых воплощениях биспецифические антитела по изобретению, имеющие формат 1+1, не включают технологию CrossMAb, т. е. ни антитело к BCMA, ни антитело к CD3 не имеет замененных друг другом переменных доменов VL и VH или константных доменов CL и CH1.

### **Типичные воплощения**

Типичные воплощения представлены на Фиг. 1–3.

В одном воплощении биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой бивалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к BCMA и одну Fc-часть в соответствии с форматом BCMA Fab – Fc – CD3 Fab. Fab-фрагмент антитела к BCMA содержит модификации аминокислот, представленные в таблице 13. Fab-фрагмент

антитела к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Это воплощение проиллюстрировано на Фиг. 1А.

В одном воплощении биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой бивалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к ВСМА и одну Fc-часть в соответствии с форматом ВСМА Fab – Fc – CD3 Fab. Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит (а) легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1, а также (б) модификации аминокислот, представленные в таблице 13. Это воплощение проиллюстрировано на Фиг. 1В.

В одном воплощении биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой трехвалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, два Fab-фрагмента антитела к ВСМА и одну Fc-часть в соответствии с форматом ВСМА Fab – Fc – CD3 Fab – ВСМА Fab. Каждый Fab-фрагмент антитела к ВСМА содержит модификации аминокислот, представленные в таблице 13. Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Это воплощение проиллюстрировано на Фиг. 2А.

В одном воплощении биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой трехвалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, два Fab-фрагмента антитела к ВСМА и одну Fc-часть в соответствии с форматом ВСМА Fab – Fc – CD3 Fab – ВСМА Fab. Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит (а) легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой



легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1, а также (б) модификации аминокислот, представленные в таблице 13. Это воплощение проиллюстрировано на Фиг. 2В.

В одном воплощении биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой трехвалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, два Fab-фрагмента антитела к ВСМА и одну Fc-часть в соответствии с форматом ВСМА Fab – Fc – ВСМА Fab – CD3 Fab. Каждый Fab-фрагмент антитела к ВСМА содержит модификации аминокислот, представленные в таблице 13. Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Это воплощение проиллюстрировано на Фиг. 2С.

В одном воплощении биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой трехвалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, два Fab-фрагмента антитела к ВСМА и одну Fc-часть в соответствии с форматом ВСМА Fab – Fc – ВСМА Fab – CD3 Fab. Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит (а) легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1, а также (б) модификации аминокислот, представленные в таблице 13. Это воплощение проиллюстрировано на Фиг. 2D.

В одном воплощении биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой бивалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к ВСМА и одну Fc-часть в соответствии с форматом Fc – CD3 Fab – ВСМА Fab. Fab-фрагмент антитела к ВСМА

содержит модификации аминокислот, представленные в таблице 13. Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Это воплощение проиллюстрировано на Фиг. 3А.

В одном воплощении биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой бивалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к ВСМА и одну Fc-часть в соответствии с форматом Fc – CD3 Fab – ВСМА Fab. Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит (а) легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1, а также (б) модификации аминокислот, представленные в таблице 13. Это воплощение проиллюстрировано на Фиг. 3В.

В одном воплощении биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой бивалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к ВСМА и одну Fc-часть в соответствии с форматом Fc – ВСМА Fab – CD3 Fab. Fab-фрагмент антитела к ВСМА содержит модификации аминокислот, представленные в таблице 13. Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Это воплощение проиллюстрировано на Фиг. 3С.

В одном воплощении биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой бивалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к ВСМА и одну Fc-часть в соответствии с форматом Fc – ВСМА Fab – CD3 Fab. Fab-фрагмент антитела к CD3

содержит (а) легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1, а также (б) модификации аминокислот, представленные в таблице 13. Это воплощение проиллюстрировано на Фиг. 3D.

В одном воплощении антитела, проиллюстрированные на Фиг. 2, дополнительно содержат модификации, представленные в таблице 12.

В одном аспекте биспецифические антитела в соответствии с изобретением представляют собой трехвалентные биспецифические антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, два Fab-фрагмента антитела к ВСМА и одну Fc-часть в соответствии с форматом ВСМА Fab – Fc – CD3 Fab – ВСМА Fab. Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой легкую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь, образованную в результате кроссинговера, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Каждый Fab-фрагмент антитела к ВСМА содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где тяжелая цепь содержит домен CH1, содержащий модификации аминокислот K147E и K213E (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU), и где легкая цепь содержит соответствующий домен CL, содержащий модификации аминокислот E123R и Q124K (пронумерованы в соответствии с номенклатурой Kabat) (т. е. модификации, представленные в таблице 13). Fc-часть содержит первую Fc-цепь и вторую Fc-цепь, где первая Fc-цепь содержит первый константный домен CH2 и первый константный домен CH3, и вторая Fc-цепь содержит второй константный домен CH2 и второй константный домен CH3. Первая Fc-цепь связана на N-конце Fc с C-концом первого антитела к ВСМА, и вторая Fc-цепь связана на N-конце Fc с C-концом Fab антитела к CD3. Первый домен CH3 содержит модификации T366S, L368A и Y407V (модификации по типу «впадины»), и второй домен CH3 содержит модификацию T366W (модификация по типу «выступа») (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU) (т. е. модификации, представленные в таблице 12). Дополнительно обе Fc-цепи дополнительно содержат модификации L234A, L235A и P329G и возможно D356E и L358M (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU). Возможно первый домен CH3

дополнительно содержит аминокислотную модификацию S354C, и второй домен CH3 дополнительно содержит аминокислотную модификацию Y349C (пронумерованы в соответствии с нумерацией EU) так, что между обоими доменами CH3 образуется дисульфидная связь.

В некоторых воплощениях фрагмент антитела к ВСМА содержит область CDR3H с SEQ ID NO:17 и область CDR3L с SEQ ID NO:20 и комбинацию областей CDR1H, CDR2H, CDR1L и CDR2L, выбранную из группы:

a) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:23 и область CDR2L с SEQ ID NO:24,

b) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:25 и область CDR2L с SEQ ID NO:26,

c) область CDR1H с SEQ ID NO:21 и область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR1L с SEQ ID NO:27 и область CDR2L с SEQ ID NO:28,

d) область CDR1H с SEQ ID NO:29 и область CDR2H с SEQ ID NO:30, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32,

e) область CDR1H с SEQ ID NO:34 и область CDR2H с SEQ ID NO:35, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32,

f) область CDR1H с SEQ ID NO:36 и область CDR2H с SEQ ID NO:37, область CDR1L с SEQ ID NO:31 и область CDR2L с SEQ ID NO:32, и

g) область CDR1H с SEQ ID NO:15 и область CDR2H с SEQ ID NO:16, область CDR1L с SEQ ID NO:18 и область CDR2L с SEQ ID NO:19, и

Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит область CDR1H с SEQ ID NO:1, область CDR2H с SEQ ID NO:2 и область CDR3H с SEQ ID NO:3, и область CDR1L с SEQ ID NO:4, область CDR2L с SEQ ID NO:5 и область CDR3L с SEQ ID NO:6.

В некоторых воплощениях Fab-фрагмент антитела к ВСМА содержит VH и VL, выбранные из группы, состоящей из:

(a) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:12,

(б) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:13,

(в) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14,

(г) область VH с SEQ ID NO:38 и область VL с SEQ ID NO:12,

(д) область VH с SEQ ID NO:39 и область VL с SEQ ID NO:12,

(е) область VH с SEQ ID NO:40 и область VL с SEQ ID NO:12, или

(ж) область VH с SEQ ID NO:9 и область VL с SEQ ID NO:11; и

Fab-фрагмент антитела к CD3 содержит область VH с SEQ ID NO:7 и область VL с SEQ ID NO: 8.

В следующих воплощениях биспецифическое антитело в соответствии с изобретением содержит следующие SEQ ID NO (как указано в таблицах 14A и 15B ниже):

83A10-TCB<sub>CV</sub>: 45, 46, 47 (x2), 48 (Фиг. 2A)

21-TCB<sub>CV</sub>: 48, 49, 50, 51 (x2) (Фиг. 2A)

22-TCB<sub>CV</sub>: 48, 52, 53, 54 (x2) (Фиг. 2A)

42-TCB<sub>CV</sub>: 48, 55, 56, 57 (x2) (Фиг. 2A)

Используемый в настоящем документе термин «83A10-TCB<sub>CV</sub>» относится к биспецифическому антителу, специфично связывающемуся с BCMA и CD3, как определено комбинацией его тяжелых и легких цепей SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47 (2x) и SEQ ID NO:48, и как показано на Фиг. 2A и описано в EP14179705.

Используемые в настоящем документе термины «21-TCB<sub>CV</sub>, 22-TCB<sub>CV</sub>, 42-TCB<sub>CV</sub>» относятся к соответствующим биспецифическим антителам Mab21, определяемому комбинацией его тяжелых и легких цепей SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50 и SEQ ID NO:51 (2x), Mab 22, определяемому комбинацией его тяжелых и легких цепей SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 и SEQ ID NO:54 (2x), и Mab42, определяемому комбинацией его тяжелых и легких цепей SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56 и SEQ ID NO:57-(2x), и как показано на Фиг. 2A и описано в WO 2017/021450.

В предпочтительном воплощении биспецифическое антитело представляет собой 42-TCB<sub>CV</sub>.

#### **Фармацевтические композиции**

Мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению можно вводить пациенту в виде фармацевтической композиции. Соответственно, в настоящем изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая мультиспецифические, например биспецифические, антитела по изобретению и фармацевтически приемлемый эксципиент.

Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый» означает утвержденный федеральными или государственными регуляторными органами

или включенный в Фармакопею США, Европейскую фармакопею или другую общепризнанную фармакопею для применения у животных, и более конкретно у людей.

Примеры подходящих эксципиентов включают одно или более из воды, солевого раствора, фосфатно-солевого буферного раствора, декстрозы, глицерина, этанола и т. п., а также любую их комбинацию. Во многих случаях предпочтительным будет включение в композицию изотонических агентов, таких как сахара, многоатомные спирты или хлорид натрия. В частности, релевантные примеры подходящих эксципиентов включают: (1) фосфатно-солевой буферный раствор Дульбекко, рН примерно 7,4, содержащий от примерно 1 мг/мл до 25 мг/мл человеческого сывороточного альбумина или не содержащий его, (2) 0,9% физиологический раствор (0,9% масс./об. хлорида натрия (NaCl)) и (3) 5% (масс./об.) раствор декстрозы; а также может содержать антиоксидант, такой как триптамин, и стабилизирующий агент, такой как Твин 20<sup>®</sup>.

Специалисту в данной области техники следует понимать, что целесообразный выбор эксципиента или эксципиентов для применения с мультиспецифическими, например биспецифическими, антителами по изобретению должен зависеть от требуемых свойств фармацевтической композиции.

#### **Монотерапии и комбинированные терапии**

В некоторых воплощениях лечение включает введение пациенту мультиспецифического, например биспецифического, антитела по изобретению в виде монотерапии.

В некоторых воплощениях лечение включает введение пациенту мультиспецифического, например биспецифического, антитела по изобретению в виде комбинированной терапии, где комбинированная терапия включает введение мультиспецифического, например биспецифического, антитела по изобретению и одного или более дополнительных терапевтических агентов. Подразумевается, что термин «комбинированная терапия» охватывает введение выбранных терапевтических агентов одному пациенту, и предназначена для включения видов лечения, при которых агенты вводят одним и тем же или разными путями введения или в одно и то же или разное время.

В некоторых воплощениях, один или более дополнительных терапевтических агентов выбраны из группы, состоящей из талидомида и его иммунотерапевтического производного, антитела к CD38, антитела к PD-1 (белок запрограммированной гибели

клеток - 1), антитела к PD-L1 (лиганд 1 белка запрограммированной гибели клеток), ингибитора гамма-секретазы (GSI), конъюгата антитела к ВСМА с лекарственным средством и анти-ВСМА CAR Т-клеточной терапии.

Термин «антитела к CD38» при использовании в настоящем документе относится к антителу, специфично связывающемуся с человеческим CD38. В одном воплощении изобретения антитело к CD38 представляет собой даратумумаб (US20150246123). В одном воплощении изобретения антитело к CD38 представляет собой изатуксимаб (SAR650984, US8877899). В одном воплощении изобретения антитело к CD38 представляет собой MOR202 (WO 2012041800). В одном воплощении изобретения антитело к CD38 представляет собой Ab79 (US8362211). В одном воплощении изобретения антитело к CD38 представляет собой Ab19 (US8362211). Дозирование такого антитела к CD38 осуществляют в соответствии с уровнем техники и оно описано в соответствующих инструкциях по медицинскому применению препарата. Например, дозировка даратумумаба обычно составляет 16 мг/кг ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)).

Термин «талидомидное соединение» или «талидомид и его иммунотерапевтическое производное» при использовании в настоящем документе относится к 2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-1,3-диону и его иммунотерапевтическим производным. В одном воплощении изобретения талидомидное соединение выбрано из группы, состоящей, без ограничения ими, из талидомида (регистрационный номер CAS 50-35-1), леналидомида (регистрационный номер CAS 191732-72-6), помалидомида (регистрационный номер CAS 19171-19-8), СС122 (регистрационный номер CAS 1398053-45-6) и СС-220 (регистрационный номер CAS 1323403-33-3) и соответствующих солей (предпочтительно соли HCl 1:1). Химическая формула СС-122 представляет собой 2,6-пиперидиндион, 3-(5-амино-2-метил-4-оксо-3(4H-хиназолинил), гидрохлорид (1:1), и СС-220 представляет собой 2,6-пиперидиндион, 3-[1,3-дигидро-4-[[4-(4-морфолинилметил)фенил]метокси]-1-оксо-2H-изоиндол-2-ил]-, (3S)-, гидрохлорид (1:1). Способы получения СС-220 описаны, например, в US 20110196150, полностью включенном в настоящий документ посредством ссылки.

Дозирование талидомидных соединений осуществляется в соответствии с уровнем техники и описано в соответствующих инструкциях по медицинскому применению препарата. Например, дозировка препарата Ревлимид® (леналидомид)

обычно составляет 25 мг один раз в сутки перорально в 1–21 сутки повторяющихся 28-суточных циклов ([www.revlimid.com](http://www.revlimid.com)), и дозировка препарата ПОМАЛИСТ® (помалидомида) для лечения множественной миеломы обычно представляет собой пероральный прием 4 мг в сутки в 1–21 сутки повторяющихся 28-дневных циклов ([www.celgene.com](http://www.celgene.com)). В одном воплощении 3-(5-амино-2-метил-4-оксо-4Н-хиназолин-3-ил)-пиперидин-2,6-дион вводят в количестве от примерно 5 до примерно 50 мг в сутки.

В одном воплощении СС-122 и СС-220 вводят в количестве от примерно 5 до примерно 25 мг в сутки. В другом воплощении СС-122 и СС-220 вводят в количестве примерно 5, 10, 15, 25, 30 или 50 мг в сутки. В другом воплощении вводят 10 или 25 мг СС-122 и СС-220 в сутки. В одном воплощении СС-122 и СС-220 вводят два раза в сутки.

Термин «антитело к PD-1» при использовании в настоящем документе относится к антителу, специфично связывающемуся с человеческим PD-1. Такие антитела, описаны, например, в WO2015026634 (МК-3475, пембролизумаб), US7521051, US8008449 и US8354509. Пембролизумаб (Кейтруда®, МК-3475) также описан в WO 2009/114335, Poole, R.M. *Drugs* (2014) 74: 1973; Seiwert, T., et al., *J. Clin. Oncol.* 32,5s (suppl; abstr 6011). В одном воплощении изобретения антитело к PD-1 представляет собой МК-3475 (WHO Drug Information, Vol. 27, No. 2, pages 161–162 (2013)) и содержит аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепи, показанные на Фиг. 6 в WO 2015026634. Аминокислотная последовательность пембролизумаба описана в WO2008156712 (CDR легкой цепи с SEQ ID NO: 15, 16 и 17 и CDR тяжелой цепи с SEQ ID NO: 18, 19 и 20). В одном воплощении изобретения антитело к PD-1 представляет собой ниволюмаб (BMS-936558, MDX 1106; WHO Drug Information, Vol. 27, No. 1, pages 68–69 (2013), аминокислотные последовательности WO2006/121168, показанные в WO 2015026634). В одном воплощении изобретения антитело к PD-1 представляет собой: пидилизумаб (CT-011, также известен как hBAT или hBAT-1; аминокислотную последовательность см. в WO2003/099196; WO 2009/101611, Fried I. et al.; *Neuro Oncol* (2014) 16 (suppl 5): v111–v112.). В одном воплощении изобретения антитело к PD-1 представляет собой MEDI-0680 (AMP-514, WO2010/027423, WO2010/027827, WO2010/027828, Hamid O. et al.; *J Clin Oncol* 33, 2015 (suppl; abstr TPS3087). В одном воплощении изобретения антитело к PD-1 представляет собой PDR001 (Naing A. et al.; *J Clin Oncol* 34, 2016 (suppl; abstr 3060). В одном воплощении изобретения антитело к PD-1 представляет собой REGN2810 (Papadopoulos K Pet al.; *J Clin Oncol* 34, 2016 (suppl; abstr



3024). В одном воплощении изобретения антитело к PD-1 представляет собой ламбролизумаб (WO2008/156712). В одном воплощении изобретения антитело к PD-1 представляет собой h409A11, h409A16 или h409A17, которые описаны в WO2008/156712. Дозирование такого антитела к PD-1 осуществляется в соответствии с уровнем техники и описано в соответствующих инструкциях по медицинскому применению препарата. Например, препарат Кейтруда® обычно вводят в концентрации 2 мг/кг массы тела один раз в три недели (<http://ec.europa.eu/health/documents>).

Термин «антитело к PD-L1» при использовании в настоящем документе относится к антителу, специфично связывающемуся с человеческим PD-L1. Такие антитела, например, описаны в WO2015026634, WO2013/019906, WO2010/077634 и US8383796. В одном воплощении изобретения антитело к PD-L1 представляет собой MPDL3280A (атезолизумаб, YW243.55.S70, WO2010/077634, McDermott DF et al., JCO March 10, 2016 vol. 34 no. 8 833–842). В одном воплощении изобретения антитело к PD-L1 представляет собой MDX-1105 (BMS-936559, WO2007/005874, Patrick A. Ott PA et al., DOI: 10.1158/1078-0432, Clinical Cancer Research-13-0143). В одном воплощении изобретения антитело к PD-L1 представляет собой MEDI4736 (дурвалумаб, WO 2016/040238 Gilbert J. et al., Journal for ImmunoTherapy of Cancer 20153(Suppl 2):P152). В одном воплощении изобретения антитело к PD-L1 представляет собой MSB001071 8C (авелумаб, Disis ML. et al., Journal of Clinical Oncology, Vol 33, No 15\_suppl (May 20 Supplement), 2015: 5509). В одном воплощении изобретения антитело к PD-L1 представляет собой антитело к PD-L1, содержащее последовательность VH с SEQ ID NO: 16 и последовательность VL с SEQ ID NO: 17, как описано в WO2016007235. Дозирование такого антитела к PD-L1 осуществляют в соответствии с уровнем техники и оно описано в соответствующих инструкциях по медицинскому применению препарата. Например, атезолизумаб обычно вводят в концентрации 1200 мг в виде внутривенной инфузии в течение 60 минут один раз в 3 недели ([www.accessdata.fda.gov](http://www.accessdata.fda.gov)).

Термин «гамма-секретаза» при использовании в настоящем документе относится к любому белку или белковому комплексу, которые проявляют активность гамма-секретазы, включающую связывание с субстратом, имеющим последовательность расщепления гамма-секретазой, и катализ расщепления последовательности расщепления гамма-секретазой в участке расщепления гамма-секретазы с получением продуктов расщепления субстрата. В одном воплощении гамма-секретаза представляет

собой белковый комплекс, содержащий одну или более из следующих субъединиц: пресенилин, никастрин, субъединицу гамма-секретазы APH-1 и субъединицу гамма-секретазы PEN-2.

Термин «ингибитор гамма-секретазы» или «GSI» при использовании в настоящем документе относится к любой молекуле, способной ингибировать или снижать экспрессию и/или функцию гамма-секретазы. В некоторых воплощениях GSI снижает экспрессию и/или функцию субъединицы гамма-секретазы (например пресенилина, никастрина, APH-1 или PEN-2). В этот термин включена любая форма «ингибитора гамма-секретазы», такая как соль, сокристалл, кристаллическая форма, пролекарство и т. д. В некоторых воплощениях GSI выбран из антитела или антигенсвязывающего фрагмента, малой молекулы, белка или пептида, и нуклеиновой кислоты.

Описанные выше воплощения следует понимать как иллюстративные примеры. Рассмотрены следующие воплощения. Следует понимать, что любой признак, описанный в отношении любого одного воплощения, можно использовать отдельно или в комбинации с другими описанными признаками и можно также использовать в комбинации с одним или более признаками любого другого воплощения или с любой комбинацией любых других воплощений. Кроме того, не описанные выше эквиваленты и модификации могут быть использованы без отклонения от объема изобретения, который определен в прилагаемой формуле изобретения.

В контексте настоящего изобретения другие примеры и вариации описанных в настоящем документе антител и способов станут очевидными специалистам в данной области техники. Другие примеры и вариации входят в объем изобретения, как представлено в прилагаемой формуле изобретения.

Каждый из всех документов, указанных в настоящем документе, полностью включен в настоящий документ посредством ссылки, включают все данные, таблицы, графические материалы и текст, представленные в указанных документах.

**Таблица 14А: Последовательности антител**

SEQ ID NO:	Название(я)	Аминокислотные последовательности
1	CD3 CDR1H	TYAMN
2	CD3 CDR2H	RIRSKYNNYATYYADSVKG
3	CD3 CDR3H	HGNFGNSYVSWFAY

4	CD3 CDR1L	GSSTGAVTTSNYAN
5	CD3 CDR2L	GTNKRAP
6	CD3 CDR3L	ALWYSNLWV
7	CD3 VH	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHG NFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS
8	CD3 VL	QAVVTQEPSLTVSPGGTVLTCGSSTGAVTTSNYA NWWQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLG GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGG TKLTVL
9	83A10 VH	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSAISGSGSTYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF DYWGQGLVTVSS
10	Mab21 VH Mab22 VH Mab42 VH	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSDNAMR WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSTYYADSVKGRFTI SRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF DYWGQGLVTVSS
11	83A10 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEI K
12	Mab21 VL Mab27 VL Mab33 VL Mab39 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSEYYLAW YQQKPGQAPRLLEHASTRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEI K
13	Mab22 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYYLAW YQQKPGQAPRLISGAGSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEI K

14	Mab42 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSDEYLSW YQQKPGQAPRLLIHSASTRATGIPDRFSGSGSGTDF TLAISRLPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEI K
15	83A10 CDR1H	SYAMS
16	83A10 CDR2H	AISGSGGSTYYADSVKG
17	83A10 CDR3H Mab21 CDR3H Mab22 CDR3H Mab42 CDR3H Mab27 CDR3H Mab33 CDR3H Mab39 CDR3H	VLGWFDY
18	83A10 CDR1L	RASQSVSSSYLAW
19	83A10 CDR2L	YGASSRAT
20	83A10 CDR3L Mab21 CDR3L Mab22 CDR3L Mab42 CDR3L	QQYGYPDF
21	Mab21 CDR1H Mab22 CDR1H Mab42 CDR1H	DNAMG
22	Mab21 CDR2H Mab22 CDR2H Mab42 CDR2H	AISGPGSSTYYADSVKG
23	Mab21 CDR1L	RASQSVSEYYLAW
24	Mab21 CDR2L	EHASTRAT
25	Mab22 CDR1L	RASQSVSSYYLAW
26	Mab22 CDR2L	SGAGSRAT
27	Mab42 CDR1L	RASQSVSDEYLSW
28	Mab42 CDR2L	HSASTRAT

29	Mab27 CDR1H	SAPMG
30	Mab27 CDR2H	AISYIGHTYYADSVKG
31	Mab27 CDR1L Mab33 CDR1L Mab39 CDR1L	RASQSVSEYYLA
32	Mab27 CDR2L Mab33 CDR2L Mab39 CDR2L	HASTRAT
33	Mab27 CDR3L Mab33 CDR3L Mab39 CDR3L	QQYGYPDFDFT
34	Mab33 CDR1H	TNAMG
35	Mab33 CDR2H	AINRFGGSTYYADSVKG
36	Mab39 CDR1H	QNAMG
37	Mab39 CDR2H	AISPTGFSTYYADSVKG
38	Mab27 VH	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLS CAASGFTFSSAP <sub>Mr</sub> W VRQAPGK GLEWVSAISYIGHTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF DYWGQGLTVTVSS
39	Mab33 VH	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLS CAASGFTFYTN <sub>Mr</sub> WVRQAPGK GLEWVSAINRFGGSTYYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF DYWGQGLTVTVSS
40	Mab39 VH	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLS CAASGFTFTQNA <sub>Mr</sub> WVRQAPGK GLEWVSAISPTGFSTYYADSVKGRFTI SRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF DYWGQGLTVTVSS
41	83A10 BCMA CH1 Mab21 BCMA CH1 Mab22 BCMA CH1 Mab42 BCMA CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEP VTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSC

42	83A10 BCMA CL Mab21 BCMA CL Mab22 BCMA CL Mab42 BCMA CL	RTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
43	CD3 CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
44	CD3 CL	ASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
45	83A10, выступ HC	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF DYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFR GLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQP EDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
46	83A10, впадина HC	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS

		<p>WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFT  ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF  DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT  AALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL  QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK  VDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK  PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD  GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL  NGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVC  TLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN  GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ  GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
47	83A10 LC	<p>EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW  YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDF  TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTEGQGTKVEI  KRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPR  EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSL  STLTLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR  GEC</p>
48	CD3 LC	<p>EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN  WVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFT  RFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHG  NFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASVAAPSVFIFP  PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  LQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSLSTLTLISKADYEEK  HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
49	Mab21, выступ HC	<p>EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNA<sub>Mr</sub>  WVRQAPGKGLEWVSAISGPSSTYYADSVKGRFTI  SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF  DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT  AALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL  QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</p>

		<p>VDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVS  PGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFR  GLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQP  EDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKG  PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS  WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL  GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP  CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV  DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA  PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLW  CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS  GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH  YTQKSLSLSPGK</p>
50	Mab21, впадина HC	<p>EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMR  WVRQAPGKGLEWVSAISGPSSTYYADSVKGRFTI  SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF  DYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT  AALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL  QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK  VDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK  PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD  GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL  NGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVC  TLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN  GQPENNYKTTPVLDSGGSFFLVSKLTVDKSRWQQ  GNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
51	Mab21 LC	<p>EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSEYYLAW  YQQKPGQAPRLIEHASTRATGIPDRFSGSGSGTDF  TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEI  KRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPR  EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLS</p>



		STLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
52	Mab22, выступ HC	EVQLLES GGGLVQP GGSRLSCAASGFTFSDNA <sub>MF</sub> WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFR GLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQP EDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
53	Mab22, впадина HC	EVQLLES GGGLVQP GGSRLSCAASGFTFSDNA <sub>MF</sub> WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVC

		TLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
54	Mab22 LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYYLAW YQQKPGQAPRLISGAGSRATGIPDRFSGSGSGTDF LTISRLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSLS STLTLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
55	Mab42, выступ HC	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMF WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF DYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFR GLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQP EDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPEAAGGPGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
56	Mab42, впадина HC	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMF WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSYYADSVKGRFTI

		SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWF DYWQGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVC TLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
57	Mab42 LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSDEYLSW YQQKPGQAPRLLIHSASTRATGIPDRFSGSGSGTDF TLAISRLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSL STLTLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC

Примечание: SEQ ID NO:20 и SEQ ID NO:33 идентичны

**Таблица 14В: Последовательности антител (краткий перечень)**

Антитело к	SEQ ID NO:							
	VH	VL	CDR1H	CDR2H	CDR3H	CDR1L	CDR2L	CDR3L
CD3	7	8	1	2	3	4	5	6
BCMA	VH	VL	CDR1H	CDR2H	CDR3H	CDR1L	CDR2L	CDR3L
83A10	9	11	15	16	17	18	19	20
Mab21	10	12	21	22	17	23	24	20
Mab22	10	13	21	22	17	25	26	20

Mab42	10	14	21	22	17	27	28	20
Mab27	38	12	29	30	17	31	32	33
Mab33	39	12	34	35	17	31	32	33
Mab39	40	12	36	37	17	31	32	33

**Таблица 15А: Дополнительные конструкции**

Фрагмент/конструкция	SEQ ID NO:			
	83A10	Mab21	Mab22	Mab42
BCMA CH1	41	41	41	41
BCMA CL	42	42	42	42
CD3 CH1	43	43	43	43
CD3 CL	44	44	44	44

**Таблица 15В: Дополнительные конструкции**

Конструкция	SEQ ID NO:			
	83A10	Mab21	Mab22	Mab42
BCMA VH_CH1cv x CD3 VL_CH1 Fc выступ LALA PG (выступ HC)	45	49	52	55
BCMAcv HC впадина LALA PG (впадина HC)	46	50	53	56
BCMAcv чел. IgG1 LC (BCMA LC)	47	51	54	57
CD3 VH_CL (CD3 LC)	48	48	48	48

### Примеры

Примеры в данном разделе предлагаются в качестве иллюстрации, а не в качестве ограничения.

#### **Пример 1: Клиническое исследование CC-93269 при рецидивирующей/рефрактерной множественной меланоме (RRMM): когорты 1–7**

В это исследование было включено 19 пациентов с RRMM, которые ранее получили  $\geq 3$  схем лечения без BCMA-направленной терапии. Предшествующие терапии включали аутологичную трансплантацию стволовых клеток, аллогенную трансплантацию стволовых клеток, леналидомид, помалидомид, бортезомиб, карфилзомиб и даратумумаб (DARA). На момент последней линии терапии у всех

пациентов была рефрактерная ММ.

Биспецифическое антитело СС-93269 (42-ТСВсv), которое специфично бивалентно связывается с ВСМА и моновалентно связывается с CD3, вводили внутривенно в течение 2 часов в 1, 8, 15 и 22-е сутки для циклов 1–3; 1 и 15-е сутки для циклов 4–6; и в 1-е сутки для цикла 7 и далее; все циклы составляли 28 суток. 14 пациентов получали фиксированную дозу СС-93269 в каждом из интервалов: 0,15 мг (когорта 1, n=1), 0,5 мг (когорта 2, n=1), 1,5 мг (когорта 3, n=1), 3 мг (когорта 4, n=4), 6 мг (когорта 5, n=3) или 10 мг (когорта 6, n=4). 5 пациентов получали начальную дозу 6 мг в 1-е сутки 1-го цикла с последующей дозой 10 мг в 8-е сутки 1-го цикла и далее (когорта 7, n=5).

#### Эффективность:

Ответ оценивали с помощью единых критериев ответа Международной группы по изучению множественной миеломы (IMWG) (Rajkumar, 2011a; Kumar, 2016) в каждом цикле, начиная с 1 суток 2-го цикла, и в конце лечения. Минимальную остаточную болезнь (MRD) оценивали с помощью оценки консорциума EuroFlow и NGS (секвенирования нового поколения), если оценка была возможна. Отрицательный показатель MRD фиксировали только при достижении минимальной чувствительности  $<1$  опухолевой клетки на  $10^5$  содержащих ядро клеток.

Из 12 пациентов, которых лечили дозой  $\geq 6$  мг СС-93269 (когорта 5–7), у 10 пациентов был достигнут частичный ответ (PR) или лучше (общая частота ответа 83,3%), включая 7 (58,3%) с очень хорошим частичным (VGPR) или лучше и 4 (33,3%) со строгим полным ответом (sCR); у 9 (75,0%) пациентов был достигнут отрицательный показатель MRD (таблица 16). Медианное время для ответа составляло 4,2 недели (диапазон 4,0–13,1). Эти данные позволяют предположить, что дозы  $\geq 6$  мг СС-93269 клинически активны.

У 4 пациентов когорты 4 не наблюдалось ответа после следующих последовательных доз 3 мг (таблица 16), что позволяет предположить, что эта доза связана с субоптимальной клинической активностью.

Данные по фармакокинетике (ПК) с дозами  $\geq 6$  мг продемонстрировали большие возрастания экспозиции после многократных доз СС-93269, что позволяет предположить значительное мишень-опосредованное распределение препарата (TMDD) и клиренс ВСМА-положительных клеток миеломы после первой дозы. Это явление не

наблюдалось при дозах 3 мг. Эти данные позволяют предположить, что доза 3 мг не будет мишень-насыщающей для большинства пациентов и обеспечивает дополнительный порог безопасности.

Таблица 16

Эффективность, n (%)	Пациенты на лечении <6мг (n = 7)	Пациенты на лечении ≥6мг (n = 12)	Все пациенты (N =19)
Общий ответ (PR или лучше)	0 (0)	10 (83,3)	10 (52,6)
VGPR или лучше	0 (0)	7 (58,3)	7 (36,8)
Отрицательный MRD	NA	9 (75,0)	NA
<b>Лучший ответ</b>			
Строгий полный ответ + полный ответ (sCR + CR)	0 (0)	4 (33,3)	4 (21,1)
Очень хороший частичный ответ (VGPR)	0 (0)	3 (25,0)	3 (15,8)
Частичный ответ (PR)	0 (0)	3 (25,0)	3 (15,8)
Минимальный ответ (MR)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Стабильное заболевание (SD)	4 (57,1)	0 (0)	4 (21,1)
Прогрессирующее заболевание (PD)	2 (28,6)	1 (8,3)	3 (15,8)
Не поддается оценке	1 (14,3)	1 (8,3)	2 (10,5)

Безопасность:

Для первой дозы и увеличений дозы у пациентов, получавших ≥6 мг, применяли профилактику CRS дексаметазоном (вплоть до 20 мг внутривенно или эквивалентно). В когортах 1–4 дексаметазон не использовали в качестве премедикации.

У пациентов проводили мониторинг клинических проявлений и симптомов, связанных с CRS (Lee, 2014), и явления CRS классифицировали и лечили в соответствии

со шкалой степени тяжести CTCAE CRS (Общие терминологические критерии оценки нежелательных CRS) (Lee, 2015).

Было обнаружено, что введение последовательных доз  $\leq 3$  мг CC-93269 хорошо переносится несмотря на то, что при этой дозе профилактику CRS не вводили. При фиксированной дозе  $\leq 3$  мг CC-93269 синдром высвобождения цитокинов наблюдался с максимум 1 степенью тяжести (ФИГ. 4).

В когорте 6, получающей последовательные дозы 6 мг CC-93269, CRS наблюдался с максимум 2 степенью тяжести, при этом все явления CRS возникали в 1 цикле. Один пациент, получающий 6 мг CC-93269 в качестве первой дозы и 10 мг в 8-е сутки 1-го цикла (когорты 7), умер в ходе исследования на фоне CRS. У этого пациента наблюдался CRS 3 степени тяжести после первой дозы 6 мг в 1-е сутки 1-го цикла и CRS 5 степени тяжести после второй дозы 10 мг в 8-е сутки 1-го цикла (ФИГ. 4). Было отмечено, что на момент включения в исследование пациента имел обширное экстрамедуллярное заболевание, сопутствующую документально подтвержденную инфекцию (*Clostridium difficile*) и подозреваемую инфекцию на момент смерти.

Из 27 явлений CRS 8 (29,6%) лечили дексаметазоном и 10 (37,0%) тоцилизумабом.

### **Пример 2: Клиническое исследование CC-93269 при рецидивирующей/рефрактерной множественной меланоме (RRMM): когорты 8–9**

Когорты 8 и 9 получали новый режим дозирования с целью балансировки клинической активности и общего профиля безопасности, в частности минимизации риска тяжелого синдрома высвобождения цитокинов (CRS) в первом цикле.

CC-93269 вводили внутривенно в течение 2 часов в 1, 8, 15 и 22-е сутки циклов 1–3; 1 и 15-е сутки циклов 4–6; и в 1-е сутки цикла 7 и далее; все циклы составляли по 28 суток. Пациенты получали начальную дозу 3 мг в 1-е сутки 1-го цикла с последующей дозой 6 мг в 8-е сутки 1-го цикла и далее.

Когорты 8 (n=6) и 9 (n=5) различаются по опухолевой массе множественной миеломы на исходном уровне, определенной на основании процента плазматических клеток костного мозга и/или наличия экстрамедуллярного заболевания (когорты 8 включала участников с  $\leq 50\%$  плазматических клеток костного мозга [биопсия или аспират] и  $\leq 5$  экстрамедуллярных очагов поражения, и когорты 9 включала участников с  $>50\%$  плазматических клеток костного мозга или  $>5$  экстрамедуллярных очагов

поражения). В исследование включали пациентов с более низкой (когорта 8) и более высокой (когорта 9) опухолевой массой, чтобы оценить возможные различия в переносимости на основании того, что из когорт 1–7 только у одного пациента, который перенес CRS  $\geq 3$  степени тяжести, было обширное экстрамедуллярное заболевание на момент включения в исследование.

Безопасность:

В когортах 8 и 9 все пациенты получали дексаметазон (вплоть до 20 мг внутривенно или эквивалентно) в качестве профилактики CRS перед введением первой дозы, второй дозы, любым увеличением дозы и после наступления перерыва во введении более 2 недель, имеющем место во время 1–6 циклов. Мониторинг, определение степени тяжести и лечение CRS у пациентов проводили таким же образом, как для когорт 1–7 в примере 1.

Из 11 пациентов, получающих режим дозирования 3/6 мг, только 6 (54,5%) перенесли CRS по сравнению с 12 из 12 участников (100%), получавших дозы 6 мг, 6/10 мг или 10 мг (когорты 5–7 из примера 1). В дополнение к снижению частоты явлений CRS тяжесть CRS в когортах 8 и 9 была в целом снижена по сравнению с когортами 5–7. Все явления CRS, зарегистрированные в когортах 8 и 9, характеризовались 1 степенью ( $n=6$  из 8 [75%]) или 2 степенью ( $n=2$  из 8 [25%]) тяжести, и не было зарегистрировано ни одного явления CRS с 3 или более высокой степенью тяжести. Явления со 2 или более высокой степенью тяжести были зарегистрированы только у 2 из 11 участников (18,2%), получающих 3/6 мг, по сравнению с 6 из 12 участников (50%), которые получали дозы 6 мг, 6/10 мг или 10 мг (ФИГ. 4). Все явления CRS в когортах 8 и 9 устраняли с помощью стандартного лечения, включающего тоцилизумаб и/или дексаметазон.

Не наблюдалось увеличение частоты или тяжести CRS у участников с более высокой опухолевой массой множественной миеломы, т. е. процента опухолевых клеток костного мозга или числа экстрамедуллярных очагов поражения (когорта 9) по сравнению с более низкой опухолевой массой (когорта 8).

Во всех когортах 1–9 из примеров 1 и 2 медианное время до первого возникновения CRS составляло 1 сутки, и максимальное время до первого возникновения CRS составляло 3 суток. Большинство явлений CRS возникало при введении первой дозы в C1D1 (73,3%), реже при введении второй дозы в C1D8 (23,3%) и редко при последующих дозах (2,7%, при этом степень тяжести явлений была



ограничена до  $\leq 2$ ), что позволяет предположить, что риск CRS снижается при продолжительном дозировании (ФИГ. 5).

Во всех когортах 1–9 из примеров 1 и 2 медианная продолжительность явления CRS составляла 2 суток (диапазон от 1 до 7 суток, при этом только 4 из 36 явлений длились более 3 суток).

#### Эффективность:

Ответ оценивали таким же образом, как в когортах 1–7 из примера 1. Участники когорт 8 и 9 (получающих поддерживающую дозу  $\geq 6$  мг после начальной дозы 3 мг) продемонстрировали улучшенный ответ по сравнению с участниками когорт 1–4 из примера 1 (получающими поддерживающую дозу  $\leq 3$  мг).

Общие частоты ответа у пациентов, которых лечили дозой вплоть до 6 мг (3/6 мг и 6 мг) были ниже, чем у пациентов, которых лечили дозой вплоть до 10 мг (6/10 мг и 10 мг). У пациентов, которых лечили дозой вплоть до 6 мг (когорты 5, 8 и 9) зарегистрировано в общей сложности 5 ответов, в результате чего предварительно рассчитанная общая частота ответа составляла 35,7%. Из 9 пациентов, которых лечили поддерживающей дозой 10 мг (когорты 6 и 7) зарегистрировано в общей сложности 8 ответов, в результате чего предварительно рассчитанная общая частота ответа составляла 88,9% (таблица 17).

Эти данные позволяют предположить, что режим дозирования, начиная с 3/6 мг, может уменьшить CRS, но более высокая поддерживающая доза 10 мг может улучшить эффективность, тем самым поддерживая режим дозирования 3/6/10 мг.

**Таблица 17**

<b>Эффективность, n (%)</b>	<b>Пациенты на лечении дозой до 3 мг (n = 7)</b>	<b>Пациенты на лечении дозой до 3 мг (n = 14)</b>	<b>Пациенты на лечении дозой до 10 мг (n = 9)</b>
Общий ответ (PR или лучше)	0 (0)	5 (35,7)	8 (88,9)
<b>Лучший ответ</b>			
Строгий полный ответ + полный ответ (sCR + CR)	0 (0)	1 (7,1)	4 (44,4)

Очень хороший частичный ответ (VGPR)	0 (0)	1 (7,1)	3 (33,3)
Частичный ответ (PR)	0 (0)	3 (21,4)	1 (11,1)
Минимальный ответ (MR)	0 (0)	0 (0)	0
Стабильное заболевание (SD)	4 (57,1)	1 (7,1)	0
Прогрессирующее заболевание (PD)	2 (28,6)	5 (35,7)	0
Не поддается оценке	1 (14,3)	3 (21,4)	1 (11,1)

**Пример 3: Влияние дексаметазона на СС-93269-опосредованное высвобождение цитокинов, активацию Т-клеток, пролиферацию Т-клеток и перенаправленный лизис клеточных линий ММ**

Четыре BCMA-экспрессирующие опухолевые клеточные линии были приобретены в ATCC (Американская коллекция типовых культур) (Манасса, штат Вирджиния) (клеточные линии множественной миеломы: высокий уровень BCMA-H929 (номер по каталогу CRL-9068), средний уровень BCMA-SKMM2 и -MM.1S (номер по каталогу ACC-430) и низкий уровень BCMA-KMS12-PE (номер по каталогу ACC-606)) культивировали совместно с Т-клетками от 3 независимых здоровых доноров (Bloodworks Northwest, Сиэтл, штат Вашингтон) в соотношении Е:Т 1:1, т. е. 1 Т-клетка : 1 клетка миеломы. Совместные культуры совместно обрабатывали клинически релевантными дозами дексаметазона (DEX: 0,0014 мкМ–1 мкМ) или контрольным раствором диметилсульфоксида (DMSO) и СС-93269 в различных концентрациях (6,4–500 нг/мл; 0,033–2,6 нМ) в течение 72 часов.

Дексаметазон вызывал снижение СС-93269-опосредованного высвобождения IL-2 (на 48,3–74,1%), GM-CSF (на 47,5–67,8%) и TNF- $\alpha$  (на 46,3–61,8%) на основании измерений с помощью мультиплексного анализа цитокинов/хемокинов человека с использованием магнитных гранул Milliplex (Millipore Sigma, Темекула, штат Массачусетс) и в соответствии с рекомендациями производителя. Процент снижения определяли при самой высокой тестируемой концентрации СС-93269, сравнивая совместную обработку 1 мкМ DEX с контролем DMSO. Уровни цитокинов

рассчитывали в соответствии со стандартной кривой в диапазоне от 2,29 до 7500 пг/мл, используя программу ForeCyt (Intellicyt). Влияние дексаметазона на СС-93269-индуцированную секрецию цитокинов определяли путем расчета процента ингибирования 1 мкМ дексаметазона по сравнению с контролем DMSO и самой высокой исследуемой концентрации СС-93269 по следующей формуле: Процент ингибирования =  $100 \times ([\text{концентрация цитокина, контроль DMSO}] - [\text{секреция цитокина, 1 мкМ дексаметазон}]) / [\text{концентрация цитокина, контроль DMSO}]$ .

На Фиг. 6 проиллюстрирована секреция цитокина из совместных культур с донорскими Т-клетками от одного здорового донора; результаты для всех 3 независимых здоровых доноров обобщены в таблице 18.

Таблица 18

Линия клеток-мишеней	% снижения СС-93269-индуцированной секреции цитокинов под действием 1 мкМ DEX					
	GM-CSF		IL-2		TNF- $\alpha$	
	Среднее значение	SD	Среднее значение	SD	Среднее значение	SD
H929	67,8	8,1	74,1	8,6	61,8	9,6
MM1S	66,7	6,5	57,6	8,6	50,3	4,7
SKMM2	56,1	5,5	56,5	3,6	46,3	9,5
KMS12-PE	47,5	6,2	48,3	2,2	53,9	11,8

SD – стандартное отклонение

Дексаметазон оказывал минимальное влияние на СС-93269-индуцированную активацию CD4 и CD8 Т-клеток, их пролиферацию и перенаправленный лизис ВСМА+ опухолевых клеточных линий (например клеточных линий множественной миеломы).

На Фиг. 7 проиллюстрирован СС-93269-индуцированный перенаправленный лизис опухолевых клеточных линий после совместного культивирования с донорскими Т-клетками от одного здорового донора; результаты для всех 3 независимых здоровых доноров обобщены в таблице 19. В 96-луночные круглодонные планшеты и конечным объемом 100 мкл помещали  $1 \times 10^4$  Т-клеток, меченных CellTrace Violet, с  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней, меченных CellTrace CFSE, в присутствии различных концентраций СС-93269 в комбинации с различными концентрациями дексаметазона (кривая доза — ответ по 7 точкам). Совместные культуры инкубировали при 37 °С с 5% CO<sub>2</sub>. После 72 часов

инкубации супернатанты культуры собирали и хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$ . Клетки метили с помощью Live/Dead Fixable Aqua Dead Cell Stain (набор реактивов для определения жизнеспособности клеток перед фиксацией) в соответствии с инструкцией производителя в течение 30 минут при комнатной температуре (КТ). Затем клетки окрашивали антителами к следующим маркерам клеточной поверхности: CD2, CD3, CD4, CD8, CD69, CD25, HLA-DR и CD154 в конечном объеме 50 мкл буферного раствора для окрашивания и проточной цитометрии (Flow Sataining Buffer). После окрашивания молекул клеточной поверхности, клетки промывали однократно 150 мкл буферного раствора для окрашивания и проточной цитометрии и ресуспендировали в 50 мкл буферного раствора для фиксации клеток BD Cytotfix и инкубировали в течение 30 минут при КТ. Клетки промывали 150 мкл буферного раствора для окрашивания и проточной цитометрии и ресуспендировали в конечном объеме 50 мкл буферного раствора для окрашивания и проточной цитометрии для анализа на приборе IQUE Screener plus (Intellicyt, Альбукерке, штат Нью-Мехико). Стопроцентную жизнеспособность определяли на основании абсолютного количества живых опухолевых клеток в отсутствие добавления СС-93269 или дексаметазона; абсолютное количество 0 живых клеток использовали для определения 100% гибели опухолевых клеток. IC50 означает концентрацию СС-93269, которая ингибирует ответ наполовину между исходным и максимальным уровнем после заданного времени воздействия. Значения IC50 рассчитывали с помощью нелинейного регрессионного анализа, сигмовидной кривой доза-ответ с использованием программы GraphPad Prism (версия 5.0).

Таблица 19

Линия клеток- мишеней	IC50 (нг/мл)				% живых опухолевых клеток			
	DMSO		1 мкМ Dex		DMSO		1 мкМ Dex	
	Среднее значение	SD	Среднее значение	SD	Среднее значение	SD	Среднее значение	SD
H929	3,42	2,76	6,52	3,32	1,61	0,97	2,11	2,22
MM1S	0,21	0,24	3,31	3,83	1,5	0,79	0,98	0,27
SKMM2	0,09	0,08	0,34	0,32	2,68	0,01	3,5	0,24
KMS12- PE	0,2	0,13	3,61	2,48	3,71	1,09	5,8	2,66

На Фиг. 8 проиллюстрирована СС-93269-индуцированная активация и пролиферация Т-клеток после совместного культивирования с донорскими Т-клетками от одного здорового донора. Пролиферирующие CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетки в ответ на возрастающее количество СС-93269 наносили на график в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение (SD) трех параллельных образцов для определения процента CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток, которые показали разведение CellTrace Violet после совместного культивирования здоровых донорских Т-клеток с опухолевыми клеточными линиями, по сравнению с культурами одних Т-клеток. Процент CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток, экспрессирующих маркеры активации CD69, CD25, HLA-DR и CD154 в ответ на возрастающее количество СС-93269 наносили на график в виде среднего значения  $\pm$  SD для трех параллельных образцов для определения процента CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток, экспрессирующих маркеры активации после совместного культивирования здоровых донорских Т-клеток с опухолевыми клеточными линиями, по сравнению с культурами одних Т-клеток. Данные пролиферации и экспрессии маркеров активации анализировали с использованием программы ForCyt (Intellicyt).

Хотя одновременная обработка дексаметазоном оказывала минимальное подавляющее воздействие на СС-93269-опосредованную цитотоксическую активность, она сильно подавляла секрецию цитокинов, что указывает на потенциальную пользу для клинического ведения синдрома высвобождения цитокинов.

### **ЭКВИВАЛЕНТЫ**

Хотя изобретение подробно описано со ссылкой на его конкретные воплощения, следует понимать, что варианты, которые являются функционально эквивалентными, входят в объем данного изобретения. Действительно, различные модификации изобретения в дополнение к показанным и раскрытым в данном описании изобретения станут очевидными специалистам в данной области техники на основании изложенного выше описания и прилагаемых графических материалов. Подразумевается, что такие модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения. Многие эквиваленты конкретных воплощений изобретения, описанных в настоящем документе, должны быть понятны специалистам в данной области техники, либо они смогут установить их, используя не более чем рутинные эксперименты. Подразумевается, что такие эквиваленты охвачены следующей ниже формулой изобретения.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Мультиспецифическое антитело, которое связывается с ВСМА (В-клеточный антиген созревания) и CD3, для применения в лечении расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА у пациента, где лечение включает введение мультиспецифического антитела в режиме дозирования, включающем:

(1) начальную фазу, когда пациенту вводят одну или более начальных доз мультиспецифического антитела; и

(2) поддерживающую фазу, когда пациенту вводят первую поддерживающую дозу мультиспецифического антитела, после чего возможно вводят по меньшей мере одну дополнительную поддерживающую дозу мультиспецифического антитела,

причем каждая поддерживающая доза выше чем одна или более начальных доз,

2. Мультиспецифическое антитело для применения по п. 1, которое представляет собой биспецифическое антитело, возможно, где биспецифическое антитело представляет собой трехвалентное биспецифическое антитело, содержащее два Fab-фрагмента антитела к ВСМА, один Fab-фрагмент антитела к CD3 и одну Fc-часть, где биспецифическое антитело имеет формат ВСМА Fab – Fc – CD3 Fab – ВСМА Fab.

3. Мультиспецифическое антитело для применения по п. 1 или 2, где антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH и VL, выбранные из группы, состоящей из:

а) области VH SEQ ID NO: 10 и области VL SEQ ID NO: 12,

б) области VH SEQ ID NO: 10 и области VL SEQ ID NO: 13,

в) области VH SEQ ID NO: 10 и области VL SEQ ID NO: 14,

г) области VH SEQ ID NO:38 и области VL SEQ ID NO: 12,

д) области VH SEQ ID NO:39 и области VL SEQ ID NO: 12,

е) области VH SEQ ID NO:40 и области VL SEQ ID NO: 12, или

ж) области VH SEQ ID NO:9 и области VL SEQ ID NO: 11.

4. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–3, где антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит область VH с SEQ ID NO: 7 и область VL с SEQ ID NO: 8.

5. Мультиспецифическое антитело для применения по п. 2, где биспецифическое антитело содержит полипептиды тяжелой и легкой цепи SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56 и SEQ ID NO: 57 (x2).

6. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–5, где начальная фаза включает однократную фиксированную дозу, возможно где однократная фиксированная доза составляет от примерно 1,5 мг до 4,5 мг, например примерно 3 мг.

7. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–6, где первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу от примерно 4,5 мг до 7,5 мг, например примерно 6 мг.

8. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–5, где начальная фаза включает однократную фиксированную дозу, возможно где однократная фиксированная доза составляет от примерно 4,5 мг до 7,5 мг, например примерно 6 мг.

9. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–6 и 8, где первая поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу от примерно 8,5 мг до 11,5 мг, например примерно 10 мг.

10. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–9, где по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза является такой же, как первая поддерживающая доза.

11. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–9, где по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза выше, чем первая поддерживающая доза.

12. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–7, где по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза представляет собой фиксированную дозу от примерно 8,5 мг до 11,5 мг, например примерно 10 мг.

13. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–12, где у пациента развилось нежелательное явление, или он подвержен риску развития нежелательного явления, связанного с введением мультиспецифического антитела, и где лечение дополнительно включает введение:

(а) стероида, например кортикостероида;

(б) антагониста цитокинового рецептора или цитокина, выбранного из GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), IL-10

(интерлейкин-10), IL-10R (рецептор интерлейкина-10), IL-6, IL-6R, IFN $\gamma$  (интерферон-гамма) IFNGR (рецептор интерферона-гамма), IL-2, IL-2R/CD25, MCP-1 (моноцитарный хемотаксический белок 1), CCR2 (хемокиновый рецептор 2), CCR4 (хемокиновый рецептор 4), MIP1 $\beta$ , CCR5 (хемокиновый рецептор 5), TNF-альфа (фактор некроза опухоли-альфа), TNFR1 (рецептора 1 TNF), IL-1 и IL-1R-альфа/IL-1 бета, где антагонист выбран из антитела или антигенсвязывающего фрагмента, малой молекулы, белка или пептида, и нуклеиновой кислоты;

в) молекулы, которая уменьшает популяцию регуляторных Т-клеток (Treg), например циклофосамида;

г) жаропонижающего, болеутоляющего средства и/или антибиотиков; и/или

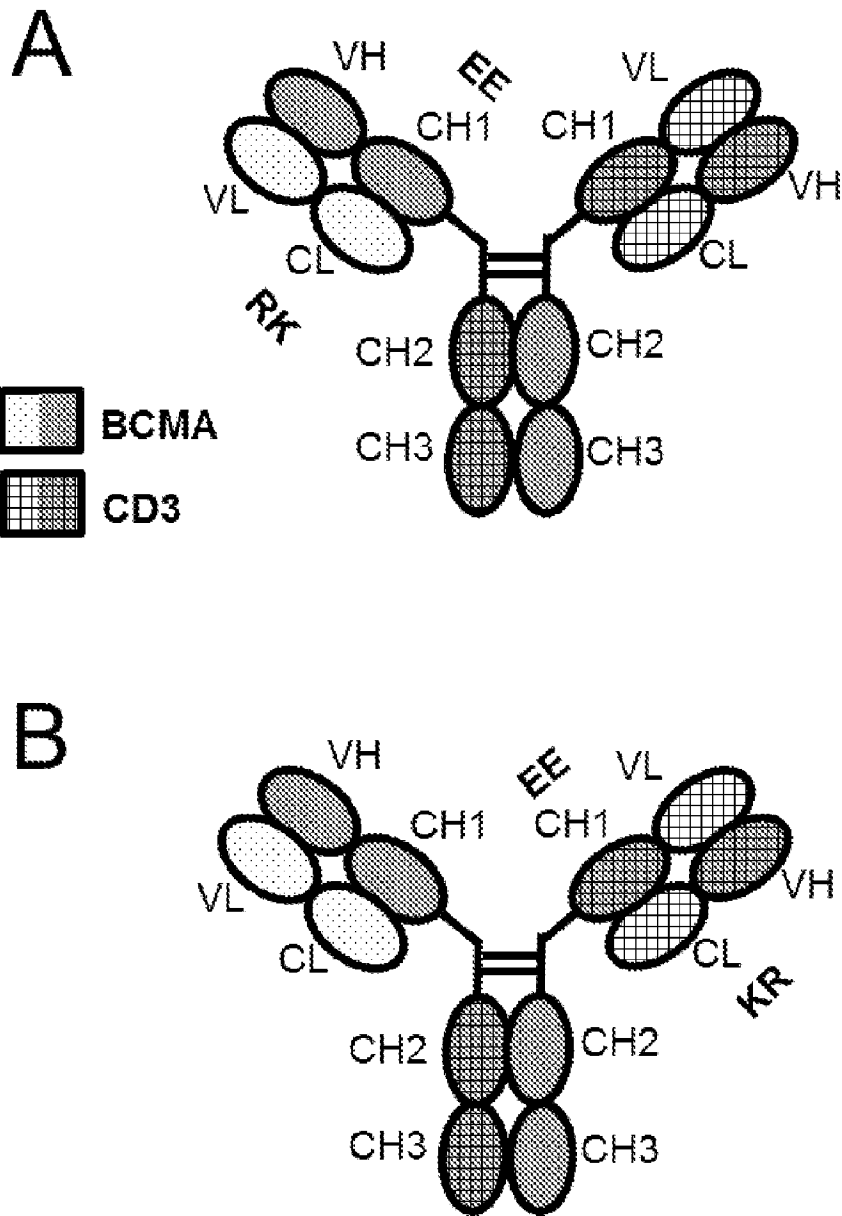
д) средства профилактики судорог, например левитирацетама.

14. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–11, где расстройство, ассоциированное с экспрессией ВСМА, представляет собой ВСМА-экспрессирующее В-клеточное злокачественное заболевание, такое как множественная миелома.

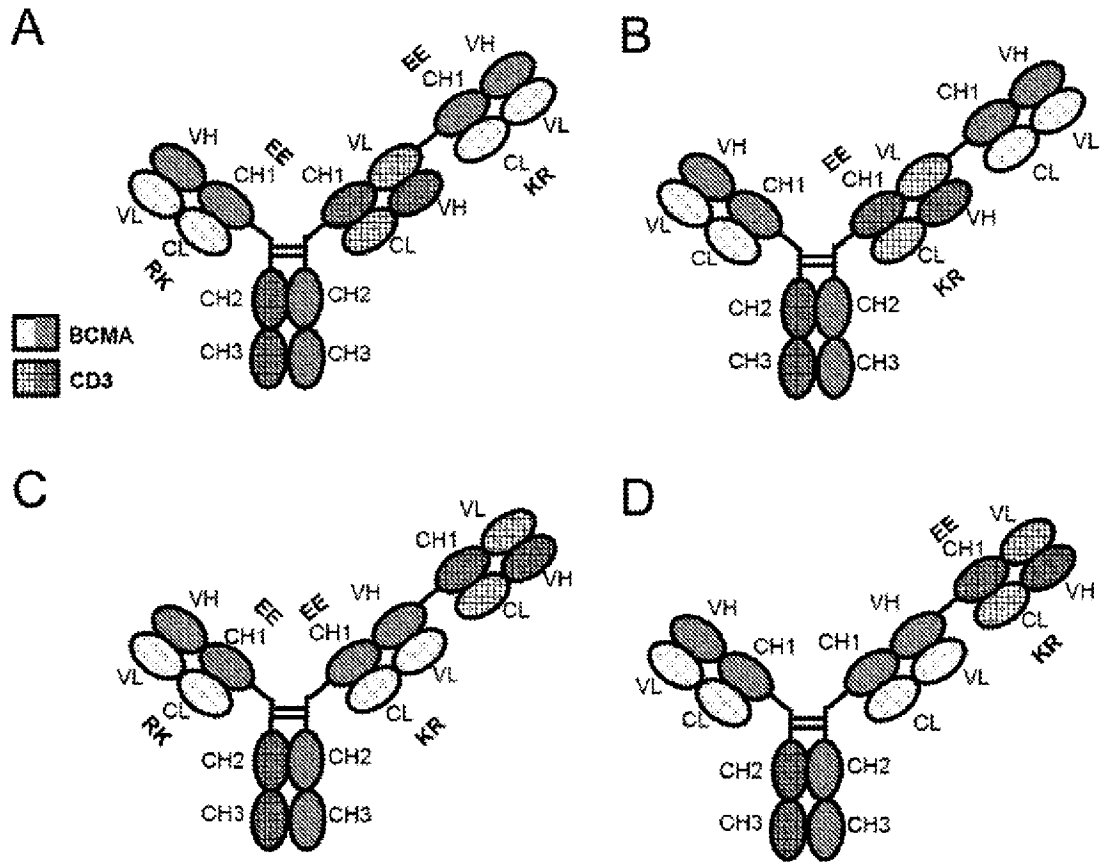
15. Мультиспецифическое антитело для применения по любому из пп. 1–12, где мультиспецифическое антитело вводят внутривенно.



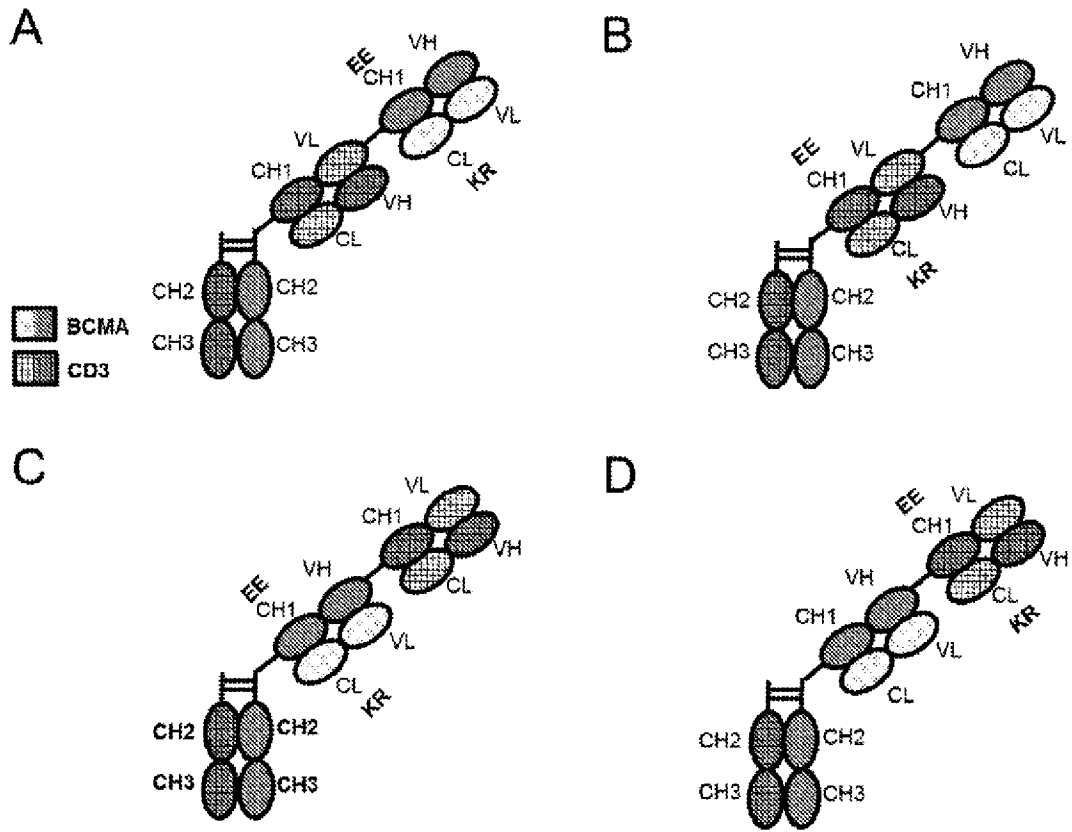
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



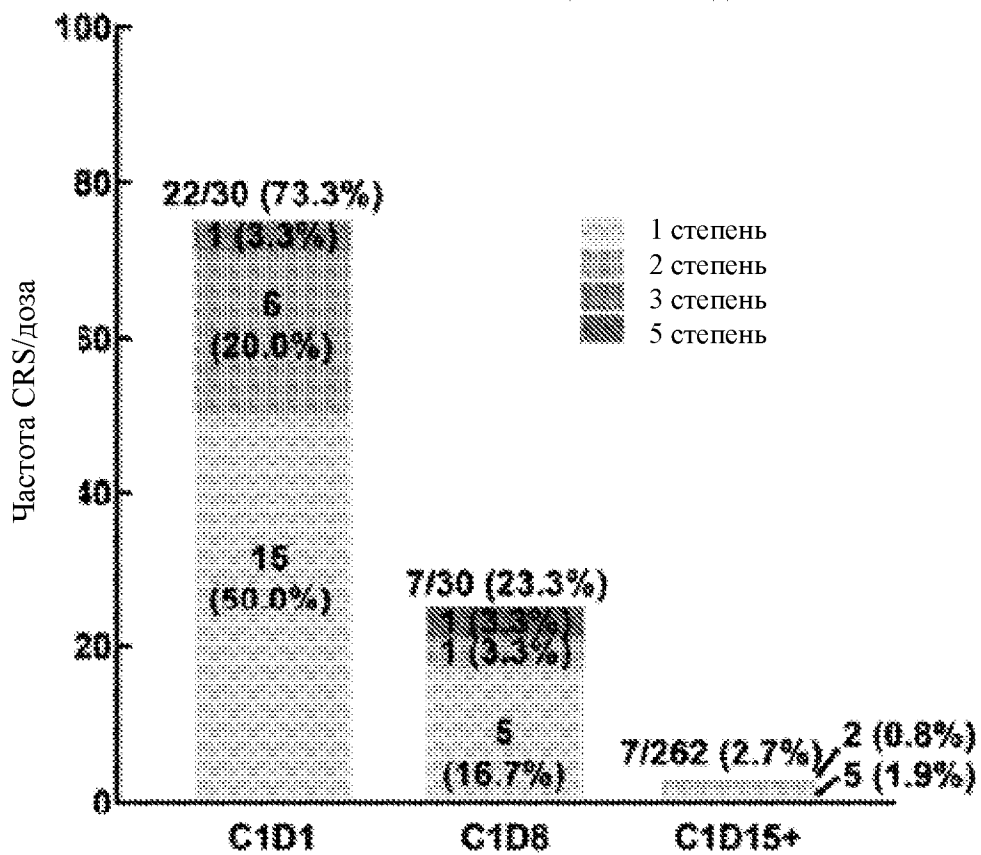


5 Способы лечения антителами к ВСМА и CD3

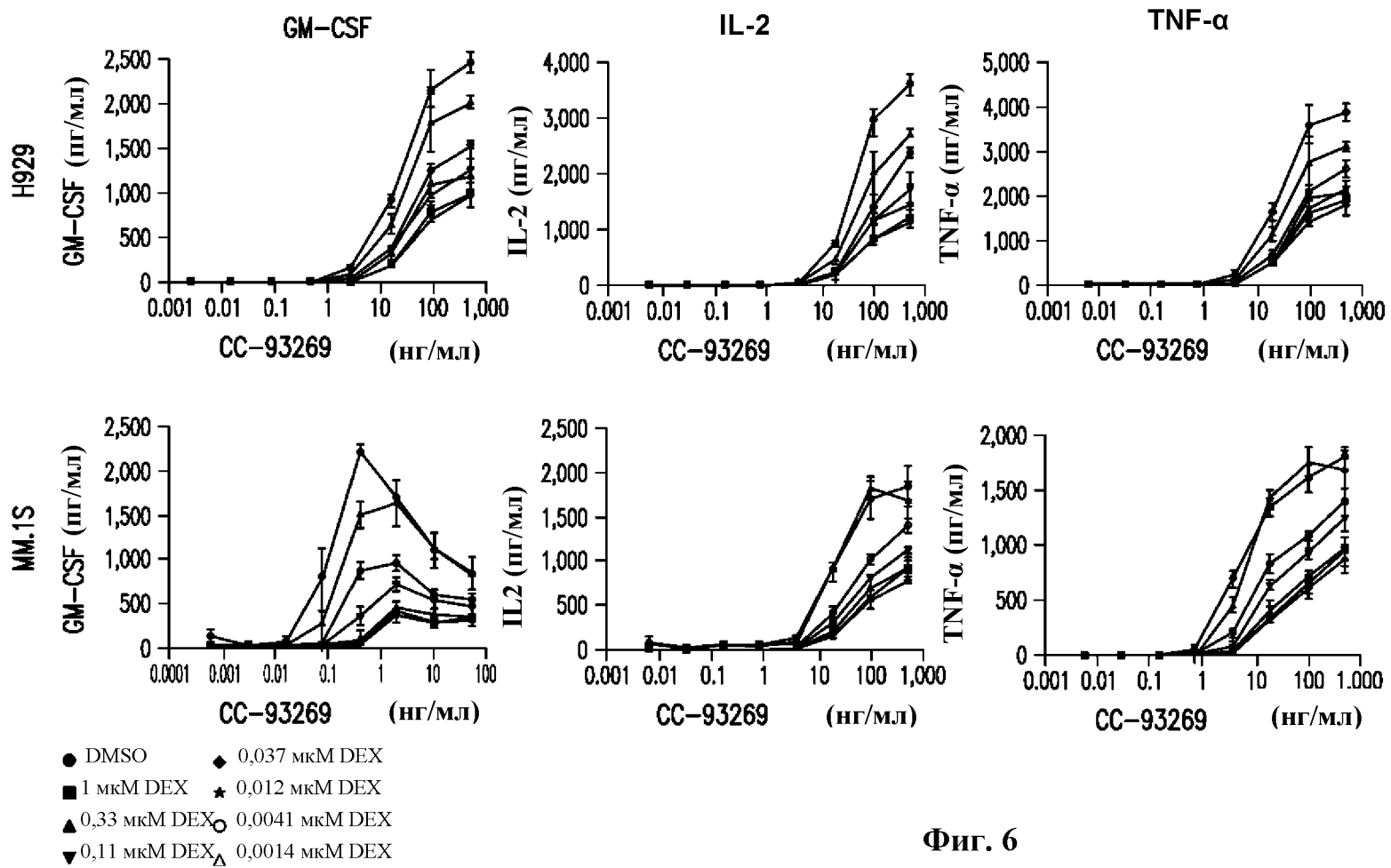
Общее кол-во участников = 30

Общее кол-во явлений CRS = 36

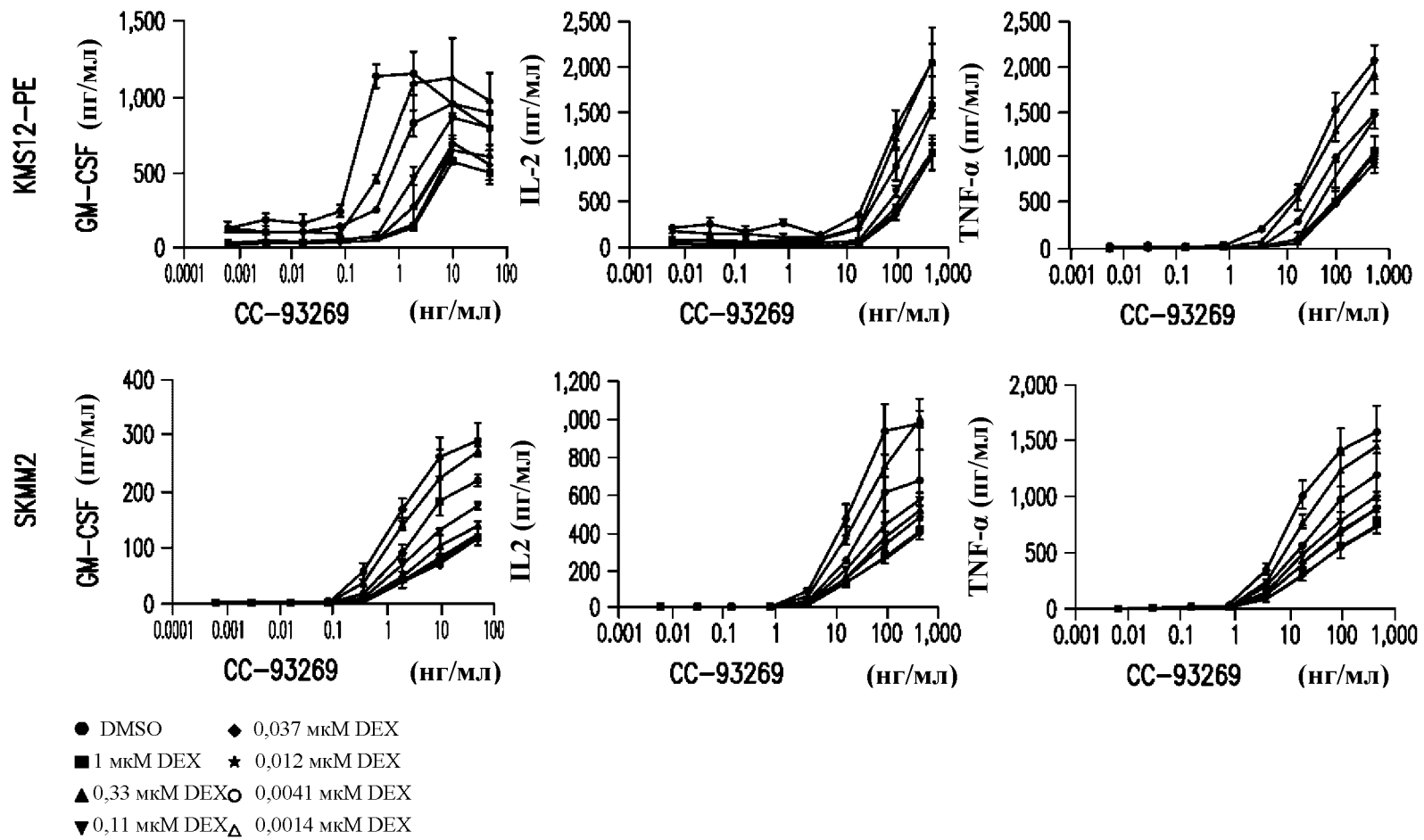
Общее кол-во доз СС-93269  $\geq$  C1D15 = 262



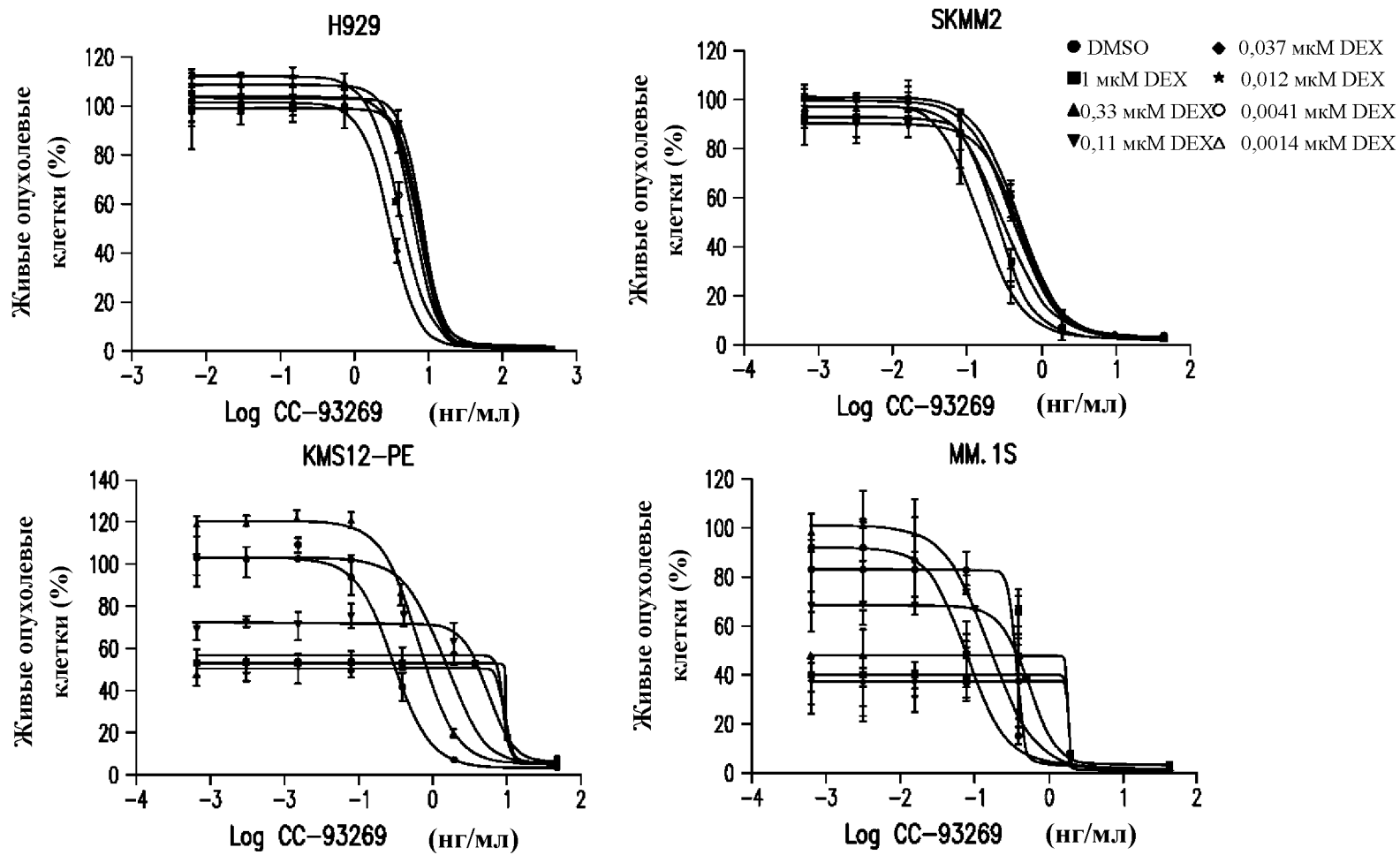
Фиг. 5



Фиг. 6

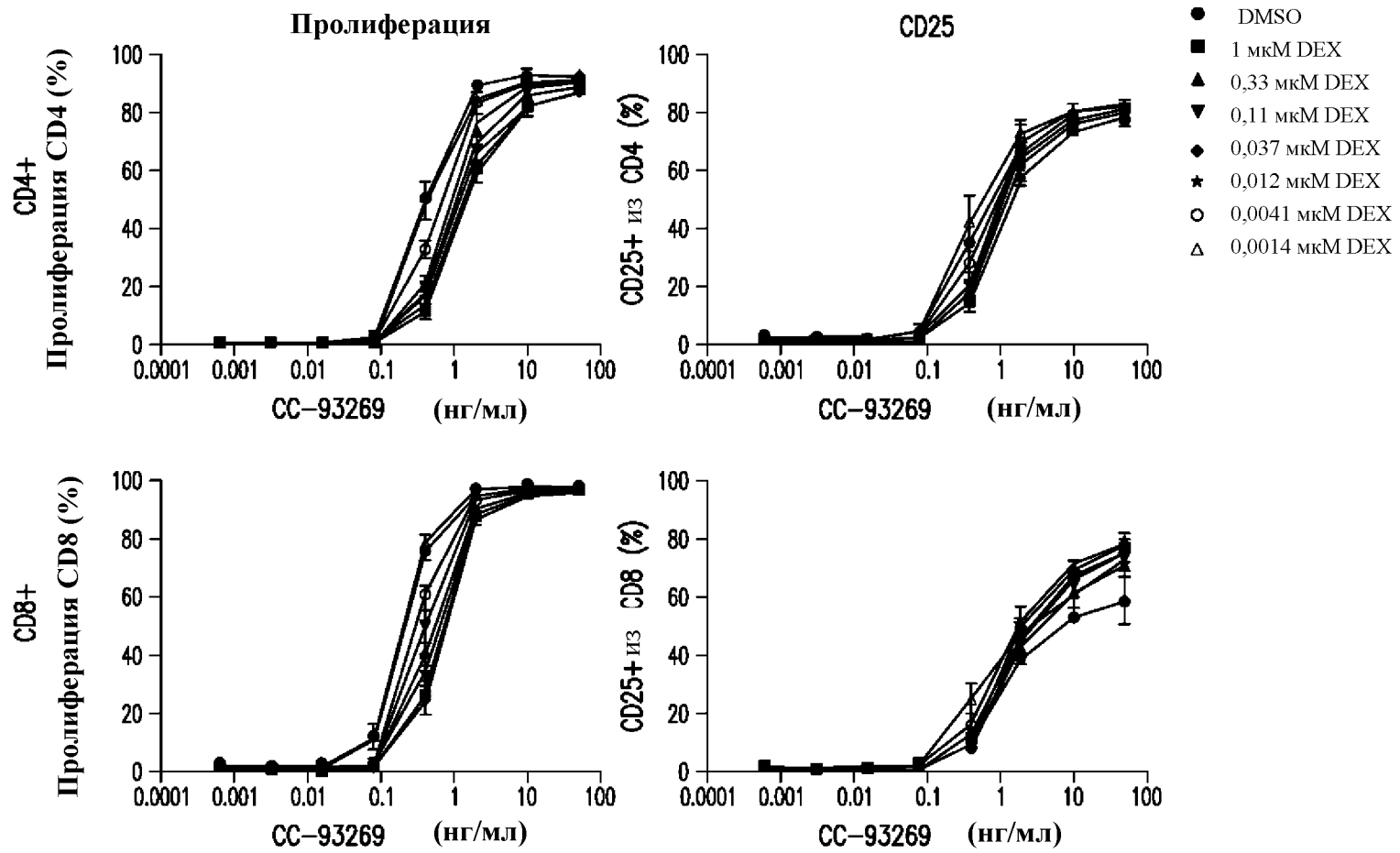


Фиг. 6 (продолжение)

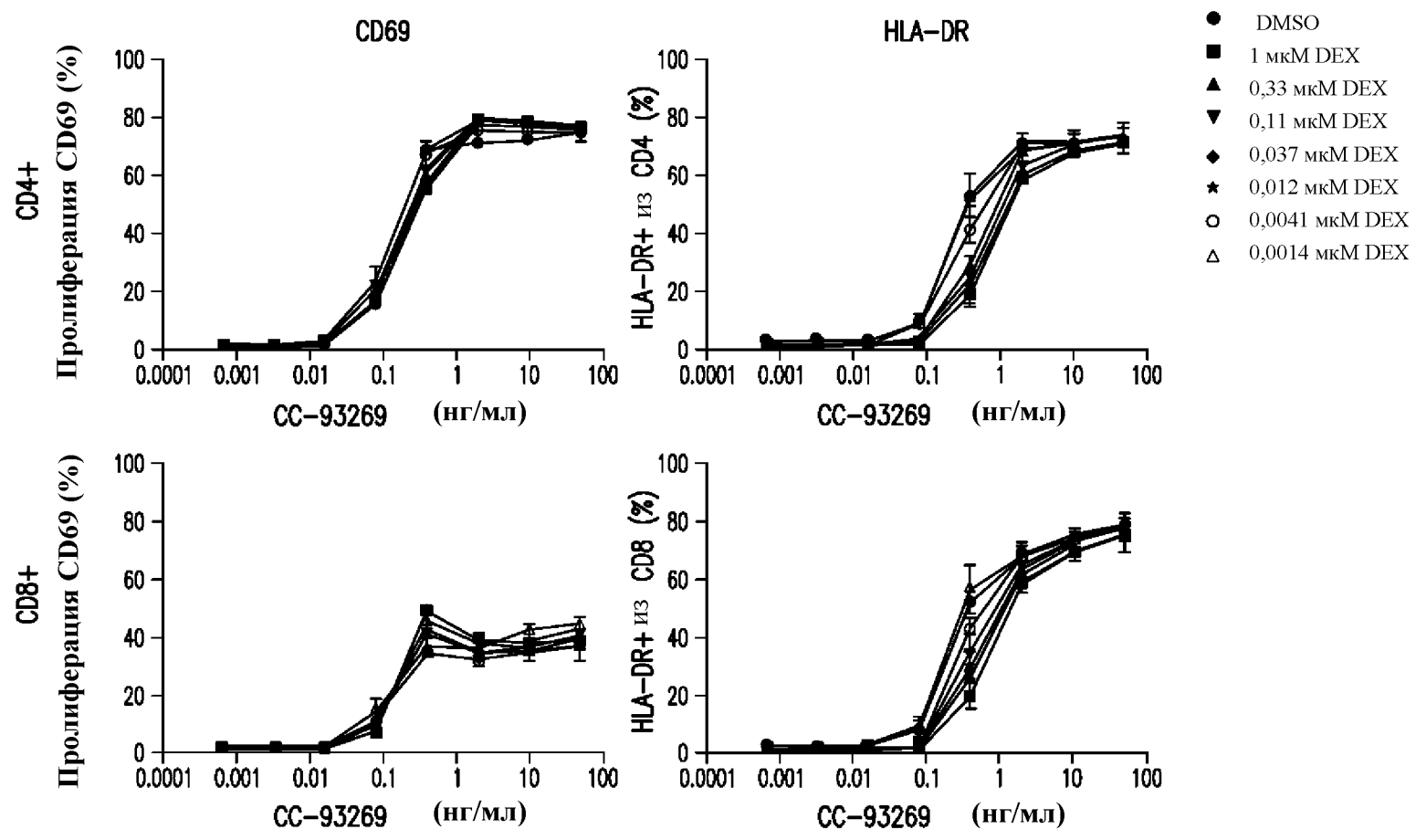


Фиг. 7





Фиг. 8



Фиг. 8 (продолжение)