

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043592**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- (45) Дата публикации и выдачи патента
2023.06.05
- (21) Номер заявки
202092830
- (22) Дата подачи заявки
2019.05.22
- (51) Int. Cl. *A61K 31/497* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К ВСМА И CD3 ДЛЯ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ**

- (31) **62/675,639**
- (32) **2018.05.23**
- (33) **US**
- (43) **2021.04.08**
- (86) **PCT/US2019/033505**
- (87) **WO 2019/226761 2019.11.28**
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
СЕЛДЖИН КОРПОРЕЙШН (US)
- (72) Изобретатель:
Пирс Дэниел У., Вонг Лилли Л. (US)
- (74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)
- (56) **WO-A-2018083204**
WO-A1-2017021450
WO-A1-2019014100

-
- (57) В данном изобретении предложены способы применения 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера или фармацевтически приемлемой соли и предложенного в данном документе биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), при лечении, предотвращении или контроле множественной миеломы.

B1

043592

043592
B1

В данной заявке испрашивается приоритет предварительной заявки США № 62/675639, поданной 23 мая 2018, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Данная заявка содержит перечень последовательностей, который предоставляется в электронном виде с именем файла 10624-451-228_SeqListing.txt, созданным 21 мая 2019 г. и имеет размер 70646 байт. Перечень последовательностей полностью включен в данное описание посредством ссылки.

1. Область техники

В данном документе предложены способы применения 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера или фармацевтически приемлемой соли в комбинации с биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), для лечения, предотвращения или контроля множественной миеломы.

2. Уровень техники

Множественная миелома (ММ) представляет собой рак плазматических клеток в костном мозге. Как правило, плазматические клетки вырабатывают антитела и играют ключевую роль в функционировании иммунной системы. Однако неконтролируемый рост данных клеток приводит к переломам костей и боли в костях, анемии, инфекции и другим осложнениям. Множественная миелома является второй наиболее распространенной гематологической злокачественной опухолью, хотя точные причины множественной миеломы остаются неизвестными. Множественная миелома вызывает высокие уровни белков в крови, моче и органах, включая, но не ограничиваясь ими, М-белка и других иммуноглобулинов (антител), альбумина и бета-2-микроглобулина, за исключением некоторых пациентов (по оценкам, от 1 до 5%), чьи клетки миеломы не секретируют данные белки (т. н. несекреторная миелома). М-белок, сокращение для моноклонального белка, также известный как парапротеин, является особенно аномальным белком, продуцируемым плазматическими клетками миеломы и может быть найден в крови или моче почти у всех пациентов с множественной миеломой, за исключением пациентов, которые имеют несекреторную миелому, или чьи клетки миеломы продуцируют легкие цепи иммуноглобулинов с тяжелой цепью.

Скелетные симптомы, включая боль в костях, являются одними из наиболее клинически значимых симптомов множественной миеломы. Злокачественные плазматические клетки высвобождают факторы, стимулирующие остеокласты (включая IL-1, IL-6 и TNF), которые вызывают вымывание кальция из костей, вызывая литические поражения; еще одним симптомом является гиперкальциемия. Факторы, стимулирующие остеокласты, называемые также цитокинами, могут предотвращать апоптоз или гибель клеток миеломы. Пятьдесят процентов пациентов имеют рентгенологически выявляемые скелетные повреждения, связанные с миеломой, на момент постановки диагноза. Другие общие клинические симптомы множественной миеломы включают полинейропатию, анемию, гипервязкость, инфекции и почечную недостаточность.

Современное лечение множественной миеломы может включать одно или более из хирургии, пересадки стволовых клеток, химиотерапии, иммунотерапии и/или лучевой терапии для уничтожения клеток множественной миеломы у пациента. Все современные терапевтические подходы имеют существенные недостатки для пациента.

В последнее десятилетие новые терапевтические агенты, в частности, иммуномодулирующие препараты, такие как леналидомид и помалидомид, значительно увеличили частоту ответа, пролонгированную выживаемость без прогрессирования (ВБП) и общую выживаемость (ОВ) у больных множественной миеломой. Тем не менее, постоянные уровни остаточного заболевания, которые находятся ниже чувствительности морфологии костного мозга (КМ), электрофореза белков с иммунофиксацией и количественного определения легких цепей, существуют у многих пациентов с множественной миеломой, даже после того как данные пациенты достигли полного ответа (ПО), и, в конечном счете, вызывают рецидив заболевания. Минимальная остаточная болезнь (МОБ) при миеломе является независимым прогностическим фактором выживаемости без прогрессирования (ВБП) и рассматривается в качестве суррогатной конечной точки исследования для улучшения идентификации эффективных методов лечения, в частности, для передовых испытаний, которые в настоящее время требуют от 5 до 10 лет наблюдения, чтобы определить различия выживаемости. Мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) у пациентов с множественной миеломой, таким образом, обеспечивает прогностическое значение при прогнозировании ВБП и ОВ и принятия решений по лечению. При определении минимальной остаточной болезни (МОБ) при миеломе можно использовать порог 0,01% (10^{-4}) после лечения, то есть, доля 10^{-4} или менее клеток множественной миеломы от общего количества моноклеарных клеток костного мозга считается МОБ-отрицательной, и доля 10^{-4} клеток или более МОБ-положительная. Порог 10^{-4} МОБ первоначально был основан на технических возможностях, но количественное определение МОБ теперь возможно при 10^{-5} с помощью проточной цитометрии и 10^{-6} с помощью секвенирования с высокой пропускной способностью. (Rawstron et al, Blood 2015;125(12): 1932-1935). Способы измерения МОБ включают секвенирование ДНК VDJ, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) (в том числе аллель-специфическую ПЦР, АСО ПЦР) и многопараметрическую проточную цитометрию (МППЦ). Анализы МОБ, например, на основе измерения профиля клонотипа, также описаны в патенте США № 8628927, Faham и др., который вклю-

чен в данный документ посредством ссылки.

Существует значительная потребность в безопасных и эффективных соединениях и способах лечения, предупреждения и сдерживания множественной миеломы, в том числе для пациентов, у которых множественная миелома впервые диагностирована или является устойчивой к стандартным способам лечения, при этом уменьшая или избегая токсичности и/или побочных эффектов, связанных с традиционной терапией.

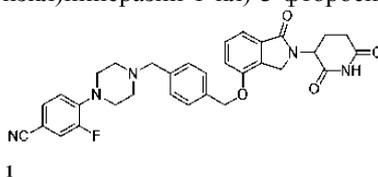
Цитирование или определение какой-либо ссылки в Разделе 2 этой заявке не должны толковаться как признание того, что эта ссылка предшествует уровню техники настоящей заявки.

В целом, техническое описание одного варианта осуществления, предложенным в настоящем документе может быть объединено с тем, что раскрыто в любых других вариантах осуществления изобретения, представленных в данном документе.

3. Сущность изобретения

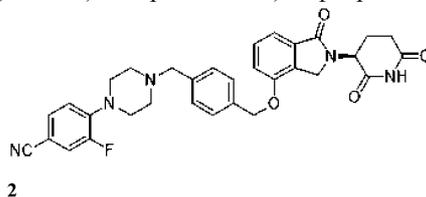
В данном документе предложены способы применения 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера или фармацевтически приемлемой соли в комбинации с биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), для лечения, предотвращения или контроля множественной миеломы.

В одном таком варианте осуществления соединение для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил (Соединение 1):



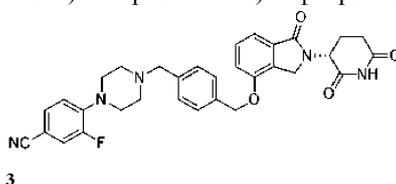
или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления соединение для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, представляет собой (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил (Соединение 2):



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В очередном варианте осуществления соединение для применения в композициях и способах, предложенных в данном документе, представляет собой (R)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил (Соединение 3):



или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), причем указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

Также для применения в способах, раскрытых в данном документе, предложены фармацевтические композиции, составленные для введения соответствующим путем и средствами, содержащие эффективные концентрации соединений, предложенных в данном документе, например, Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фарма-

цветически приемлемой соли, и, необязательно, содержащие по меньшей мере один фармацевтический носитель. Также для применения в способах, раскрытых в данном документе, предложены фармацевтические композиции, составленные для введения подходящим путем и средствами, содержащие эффективные концентрации антител, предложенных в данном документе, например, биспецифического антитела, содержащего первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), причем указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления фармацевтические композиции доставляют количества, эффективные для лечения множественной миеломы. В одном варианте осуществления фармацевтические композиции доставляют количества, эффективные для профилактики множественной миеломы. В одном варианте осуществления фармацевтические композиции доставляют количества, эффективные для облегчения множественной миеломы.

Также в данном документе предложены комбинированные терапии с применением соединений или композиций, предложенных в данном описании, или их энантиомеров, смесей энантиомеров, таутомеры, изотопологи или фармацевтически приемлемые соли и биспецифическое антитело, которое специфически связывается с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенное в данном документе, в комбинации с другой терапией, например, другим фармацевтическим агентом с активностью против множественной миеломы или ее симптомов. Примеры терапий в пределах объема данных способов включают, но не ограничиваются ими, хирургию, химиотерапию, лучевую терапию, биологическую терапию, трансплантацию стволовых клеток, клеточную терапию и их комбинации.

Соединения или композиции, предложенные в данном документе, или их фармацевтически приемлемые производные могут быть введены одновременно с, до или после введения любой другой и одним или более из вышеуказанных терапевтических средств. Также предложены фармацевтические композиции, содержащие соединение, предложенное в данном документе, и одну или более вышеуказанных терапий.

В осуществлении способов эффективное количество соединений или композиций, содержащих терапевтически эффективные концентрации соединений, вводят индивидууму, проявляющему симптомы множественной миеломы, подлежащей лечению. Данные количества являются эффективными для облегчения или устранения одного или нескольких симптомов множественной миеломы.

Дополнительно также предложен фармацевтический комплект или набор, содержащий один или более контейнер, заполненный одним или более ингредиентами фармацевтических композиций. При необходимости, могут предоставляться связанные с таким контейнером(ами) уведомление в форме, предписанной правительственным агентством, регулирующим производство, применение или продажу фармацевтических препаратов или биологических продуктов, которое отражает утвержденное агентством по производству, применение или продажу для введения человеку. Пакет или набор могут быть помечены информацией о способе введения, последовательности введения лекарственного средства (например, отдельно, последовательно или одновременно) или тому подобное.

Эти и другие аспекты предмета изобретения, описанного в данном описании, станут очевидными при ссылке на следующее подробное описание.

4. Подробное описание сущности изобретения

А. Определения

Если не указано иное, все используемые в данном документе технические и научные термины имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области техники. Все патенты, заявки, опубликованные заявки и другие публикации полностью включены посредством ссылки. В случае наличия нескольких определений термина, упомянутого в данном документе, следует руководствоваться определением, представленным в данном разделе, если не указано иное.

Использование термина в единственном числе при применении в сочетании с термином "содержащий" в пунктах формулы изобретения и/или в спецификациях может означать "один", но оно также соответствует значению "один или более", "по меньшей мере один" и "один или более одного".

Используемые здесь термины "содержащий" и "включающий" могут использоваться взаимозаменяемо. Термины "содержащий" и "включающий" следует толковать как указывающие наличие указанных признаков или компонентов, как указано, но не исключающие наличие или добавление одного или более признаков, или компонентов, или их групп. Кроме того, термины "содержащий" и "включающий" предназначены для включения примеров, охватываемых термином "состоящий из". Следовательно, тер-

мин "состоящий из" может использоваться вместо терминов "содержащий" и "включающий", чтобы обеспечить более конкретные варианты осуществления изобретения.

Термин "состоящий из" означает, что предмет имеет по меньшей мере 90%, 95%, 97%, 98% или 99% заявленных признаков или компонентов, из которых он состоит. В другом варианте реализации изобретения термин "состоящий из" исключает из объема любого последующего перечисления любые другие признаки или компоненты, за исключением тех, которые не являются существенными для технического эффекта, который должен быть достигнут.

Используемый в данном документе термин "или" следует интерпретировать как включающее "или", означающее любую одну или любую комбинацию. Следовательно, "А, В или С" означает любое из следующего: "А; В; С; А и В; А и С; В и С; А, В и С". Исключение из этого определения будет иметь место только в том случае, если комбинация элементов, функций, этапов или действий является в некотором роде взаимно исключающей.

"IC₅₀" относится к количеству, концентрации или дозе конкретного тестируемого соединения, которое достигает 50% ингибирования от максимального ответа, такого, как связывание рецептора, активность рецептора, клеточный рост или пролиферация, по измерения с помощью любого из анализов *in vitro* или анализов на основе клеток, описанных в данном документе.

Фармацевтически приемлемые соли включают, без ограничения, соли аминов, таких как, но не ограничиваясь ими, N, N'-дибензилэтилендиамин, хлорпрокаин, холин, аммиак, диэтаноламин и другие гидроксиалкиламины, этилендиамин, N-метилглюкамин, прокаин, N-бензилфенетиламин, 1-пара-хлорбензил-2-пирролидин-1'-илметил-бензимидазол, диэтиламин и другие алкиламины, пиперазин и трис(гидроксиметил)аминометан; соли щелочных металлов, таких как, но не ограничиваясь ими, литий, калий и натрий; соли щелочно-земельных металлов, таких как, но не ограничиваясь ими, барий, кальций и магний; соли переходных металлов, таких как, но не ограничиваясь ими, цинк; и соли других металлов, таких как, но не ограничиваясь ими, гидрофосфат натрия и динатрийфосфат; и также включают, но не ограничиваясь ими, соли минеральных кислот, такие как, но не ограничиваясь ими, гидрохлориды и сульфаты; и соли органических кислот, такие как, но не ограничиваясь ими, ацетаты, лактаты, малаты, тартраты, цитраты, аскорбаты, сукцинаты, бутираты, валераты, фумараты и органические сульфонаты.

Если конкретно не указано иное, в том случае, когда у соединения можно предположить существование альтернативных таутомерных, региоизомерных и/или стереоизомерных форм, все альтернативные изомеры охватываются в пределах объема заявленного объекта изобретения. Например, где соединение может иметь одну из двух таутомерных форм, предполагается, что в данное описание будут включены оба таутомера.

Таким образом, соединения, предлагаемые в данном описании, могут быть энантиомерно чистыми или быть стереоизомерными или диастереомерными смесями. Как используется в данном документе и если не указано иное, термин "стереомерно чистый" или "оптически чистый" означает композицию, которая содержит один стереоизомер соединения и практически не содержит других стереоизомеров указанного соединения. Например, стереомерно чистая композиция соединения, имеющего один хиральный центр, будет по существу не содержать противоположного энантиомера данного соединения. Стереомерно чистая композиция соединения, имеющего два хиральных центра, будет по существу не содержать других диастереомеров данного соединения. Типичное стереоизомерно чистое соединение содержит более чем около 80% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем около 20% по массе других стереоизомеров данного соединения, в одном варианте осуществления, более чем около 90% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем около 10% по массе других стереоизомеров данного соединения, в одном варианте осуществления, более чем около 95% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем около 5% по массе других стереоизомеров данного соединения, и в одном варианте осуществления, более чем около 97% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем около 3% по массе других стереоизомеров данного соединения. Как используется в данном документе, стереомерно чистое соединение содержит более чем около 80% по массе одного стереоизомера данного соединения, в одном варианте осуществления, более чем около 90% по массе одного стереоизомера данного соединения, в одном варианте осуществления, более чем около 95% по массе одного стереоизомера данного соединения, и в одном варианте осуществления, более чем около 97% по массе одного стереоизомера данного соединения. Как используется в данном документе и если не указано иное, термин "стереомерно обогащенный" означает композицию, которая содержит более чем около 60% по массе одного стереоизомера соединения, в одном варианте осуществления, более чем около 70% по массе и в одном варианте осуществления, более чем около 80% по массе одного стереоизомера соединения. Как используется в данном документе и если не указано иное, термин "энантиомерно чистый" означает стереомерно чистую композицию соединения, имеющего один хиральный центр. Аналогичным образом, термин "стереомерно обогащенный" означает стереомерно обогащенную композицию соединения, имеющего один хиральный центр. Как используется в данном документе, смеси стереоизомеров или диастереомеров означает композицию, которая содержит более одного стереоизомера соединения. Типичная смесь стереоизомеров соединения содержит около 50% по массе одного стереоизомера данного соединения и около 50% по массе других стереоизомеров данного соединения или содержит более чем

около 50% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем около 50% по массе других стереоизомеров данного соединения, или содержит более чем около 45% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем около 55% по массе других стереоизомеров данного соединения, или содержит более чем около 40% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее чем около 60% по массе других стереоизомеров данного соединения, или содержит более чем около 35% по массе одного стереоизомера данного соединения и менее, чем около 65% по массе других стереоизомеров данного соединения.

Следует понимать, что представленные здесь соединения могут содержать хиральные центры. Такие хиральные центры могут иметь либо (R), либо (S) конфигурацию, либо могут быть их смесью. Следует понимать, что хиральные центры соединений, представленных в настоящем документе, могут подвергаться эпимеризации *in vivo*. Таким образом, специалист в данной области техники поймет, что введение соединения в его (R) форме эквивалентно, в случае соединений, которые подвергаются эпимеризации *in vivo*, введению соединения в его (S) форме.

Оптически активные (+) и (-), (R)- и (S)-, или (D) - и (L)- изомеры могут быть получены с использованием хиральных синтонов или хиральных реагентов, или разделены с использованием обычных методов, таких, как хроматография с хиральной неподвижной фазой.

Как используется в данном документе, "изотополог" означает изотопно обогащенное соединение. Термин "изотопно обогащенный" относится к атому, имеющему изотопный состав, отличный от природного изотопного состава данного атома. "Изотопно обогащенный" может также относиться к соединению, содержащему, по меньшей мере, один атом, имеющий изотопный состав, отличный от природного изотопного состава данного атома. Термин "изотопный состав" относится к количеству каждого присутствующего изотопа для данного атома. Радиоактивно меченные и изотопно обогащенные соединения являются полезными в качестве терапевтических агентов, например, терапевтических агентов для множественной миеломы, исследовательских реагентов, например, реагентов анализа связывания и диагностических агентов, например, агентов визуализации *in vivo*. Все изотопные варианты соединений, описанных в данном документе, радиоактивны они или нет, должны охватываться объемом данных вариантов реализации, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления, предложены изотопологи данных соединений, например изотопологи Соединения 1, Соединения 2 или Соединения 3 представляют собой соединения, обогащенные дейтерием, углеродом-13 или азотом-15. В некоторых вариантах осуществления изотопологи, предложенные в данном документе, являются соединениями, обогащенными дейтерием. В некоторых вариантах осуществления изотопологи, предложенные в данном документе, являются соединениями, обогащенными дейтерием, где обогащение дейтерием происходит на хиральном центре.

В описании, приведенном в данном документе, если существует какой-либо расхождение между химическим названием и химической формулой, формула имеет приоритет.

Как используется в данном документе, термин "множественная миелома" относится к гематологическим состояниям, характеризующихся злокачественными плазматическими клетками и включает следующие расстройства: моноклональная гаммапатия неясного генеза (МГНГ); рецидивирующая, рефрактерная или устойчивая множественная миелома; множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска; впервые диагностированная множественная миелома (в том числе впервые диагностированная множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска); множественная миелома с возможностью трансплантации и без возможности трансплантации; вялотекущая (медленно прогрессирующая) множественная миелома (в том числе вялотекущая множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска); активная множественная миелома; одиночная плазмоцитома; экстрамедуллярная плазмоцитома; лейкоз плазматических клеток; множественная миелома центральной нервной системы; легкоцепочечная миелома; несекреторная миелома; миелома иммуноглобулина D; и миелома иммуноглобулина E; и множественная миелома характеризующаяся генетическими аномалиями, такими как транслокация циклина D (например, t(11;14)(q13;q32); t(6;14)(p21;32); t(12;14)(p13;q32); или t(6;20);); транслокации MMSET (например, t(4;14)(p16;q32)); транслокации MAF (например, t(14;16)(q32;q32); t(20;22); t(16; 22)(q11;q13); или t(14;20)(q32;q11)); или другие факторы хромосом (например, делеция 17p13, или хромосомы 13; del(17/17p), негиперплоидия и gain(1q)).

Как используется в данном документе и если не указано иное, термины "лечить", "лечат" и "лечение" относятся к облегчению или уменьшению тяжести симптома, связанного с заболеванием или состоянием, подлежащим лечению, например, множественной миеломой.

Термин "предупреждение" распространяется на уменьшение симптомов конкретного заболевания или нарушения, например, множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления пациенты с семейным анамнезом множественной миеломы являются кандидатами для предупреждающих режимов. Как правило, термин "предупреждение" относится к введению препарата до появления симптомов, особенно пациентам с возможным появлением множественной миеломы.

Как используется в данном документе и если не указано иное, термин "сдерживание" включает предупреждение рецидива конкретного заболевания или расстройства, такого, как множественная миелома, у пациента, который страдал от него, удляняя время, когда пациент, который страдал от этого за-

болевания или расстройства, остается в состоянии ремиссии, уменьшая смертность пациентов и/или поддержание снижения тяжести или предотвращение симптома, связанного с заболеванием или состоянием, которое сдерживают.

Как используется в данном документе, термин "субъект" или "пациент" означает животное, как правило, млекопитающее, включая человека, такого, как больной человек.

Термин "рецидивирующий" относится к ситуации, когда пациенты у которых была ремиссия множественной миеломы после терапии имели возвращение клеток миеломы и снижение количества здоровых клеток в костном мозге.

Термин "рефрактерный или резистентный" относится к тому обстоятельству, когда пациенты, даже после интенсивного лечения, имеют остаточные клетки миеломы и/или редуцированные здоровые клетки в своем костном мозге.

Как используется в данном документе, "индукционная терапия" относится к первому лечению данного заболевания, или первому лечению, оказанному с целью индукции полной ремиссии заболевания, такого как рак. В случае использования отдельно, принято, что индукционная терапия является наилучшим имеющимся лечением. Если обнаружен остаточный рак, пациенты подвергаются лечению другой терапией, называемой реиндукционной. Если пациент находится в состоянии полной ремиссии после индукционной терапии, затем оказывается дополнительная укрепляющая и/или поддерживающая терапия, чтобы продлить ремиссию или потенциально вылечить пациента.

Как используется в данном документе, термин "укрепляющая терапия" относится к лечению заболевания после достижения первой ремиссии. Например, укрепляющей терапией рака является лечение, оказанное после того как рак исчез после начальной терапии. Укрепляющая терапия может включать лучевую терапию, трансплантацию стволовых клеток или лечение лекарствами от рака. Укрепляющую терапию также называют усиливающей терапией и постремиссионной терапией.

Как используется в данном документе, термин "поддерживающая терапия" относится к лечению заболевания после достижения ремиссии или наилучшего ответа для предотвращения или задержки рецидива. Поддерживающая терапия может включать химиотерапию, гормональную терапию или целенаправленную терапию.

Как используется в данном документе и если не указано иное, термины "терапевтически эффективное количество" и "эффективное количество" соединения относятся к количеству, достаточному для обеспечения терапевтического эффекта при лечении, предупреждении и/или сдерживании заболевания, например, множественной миеломы, чтобы задержать или свести к минимуму один или более симптомов, связанных с заболеванием или расстройством, подлежащим лечению. Термины "терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" могут включать такое количество, которое улучшает общую терапию, снижает или исключает симптомы или причины заболевания или расстройства или усиливает терапевтическую эффективность другого терапевтического средства.

Термины "совместное введение" и "в сочетании с" включают введение одного или более терапевтических агентов (например, соединение, предложенное в данном документе и еще один агент против множественной миеломы, противораковый агент или агент поддерживающей терапии) одновременно, параллельно или последовательно без каких-либо конкретных ограничений по времени. В одном варианте осуществления указанные агенты присутствуют в клетке или в организме пациента в одно и то же время или проявляют свой биологический или терапевтический эффект в одно и то же время. В одном варианте осуществления терапевтические агенты находятся в одном и том же составе или в виде единичной дозированной формы. В другом варианте реализации терапевтические средства находятся в различных композициях или различных единичных лекарственных формах.

Термин "агент поддерживающей терапии" относится к любому веществу, которое лечит, предотвращает или сдерживает неблагоприятный эффект от лечения Соединением 1, Соединением 2 или Соединением 3, или его энантиомером или смесью энантиомеров, таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью.

Термин "биологическая терапия" относится к введению биологической терапии, такой как пуповинная кровь, стволовые клетки, факторы роста и подобное.

В контексте рака, ингибирование может быть оценено по ингибированию прогрессирования заболевания, ингибированию роста опухоли, уменьшению первичной опухоли, облегчению симптомов, связанных с опухолью, ингибированию факторов, секретируемых опухолью, задержке появления первичных или вторичных опухолей, замедлению развития первичных или вторичных опухолей, снижению возникновения первичных или вторичных опухолей, замедлению или снижению тяжести вторичных эффектов заболевания, задержанию роста опухоли и регрессии опухолей, увеличению времени до прогрессирования (ВДП), увеличению выживаемости без прогрессирования (ВБП), увеличению общей выживаемости (ОВ), среди прочего. Как используется в данном документе, ОВ означает время от начала лечения до смерти по любой причине. Как используется в данном документе ВДП означает время от начала лечения до прогрессирования опухоли; ВДП не включает смерти. В одном варианте осуществления ВБП означает время от начала лечения до прогрессирования опухоли или смерти. В другом варианте осуществления ВБП означает время от первой дозы соединения до первого проявления прогрессирования забо-

левания или смерти по любой причине. В одном варианте осуществления скорости ВБП будут вычислены с использованием оценок Каплана-Мейера. Бессобытийная выживаемость (EFS) означает время от момента начала лечения до любого проявления неэффективности лечения, в том числе прогрессирования заболевания, прерывания лечения по любой причине или смерти. В одном варианте осуществления частота общего ответа (ЧОО) означает долю пациентов, которые достигают ответа на лечение. В одном варианте осуществления ЧОО означает сумму долей пациентов, которые достигают полного и частичного ответов. В одном варианте осуществления ЧОО означает долю пациентов чей лучший ответ \geq частичного ответа (ЧО), в соответствии с критериями равномерного ответа IMWG. В одном варианте осуществления продолжительность ответа (ПО) представляет собой время от достижения ответа до рецидива или прогрессирования заболевания. В одном варианте осуществления ПО представляет собой время от достижения ответа \geq частичного ответа (ЧО) до рецидива или прогрессирования заболевания. В одном варианте осуществления ПО представляет собой время от первого документирования ответа до первого документирования прогрессирования заболевания или смерти. В одном варианте осуществления ПО представляет собой время от первого документирования ответа \geq частичного ответа (ЧО) до первого документирования прогрессирования заболевания или смерти. В одном варианте осуществления время до развития ответа (TTR) означает время от первой дозы соединения до первого документирования ответа. В одном варианте осуществления TTR означает время от первой дозы соединения до первого документирования ответа \geq частичного ответа (ЧО). В крайнем случае, полное ингибирование, упоминается в данном документе как предупреждение или химиопреупреждение. В данном контексте, термин "предупреждение" включает либо полное предупреждение начала клинически очевидного рака или предупреждение начала доклинически очевидной стадии рака. Также предназначено для охвата данным определением предупреждение трансформации в злокачественные клетки или задержание или обращение прогрессирования доброкачественных клеток в злокачественные клетки. Это включает профилактическое лечение лиц с повышенным риском развития рака.

В контексте множественной миеломы ответ можно оценить с использованием критериев консенсуса Международной рабочей группы по миеломе (IMWG) для ответа и оценки минимального остаточного заболевания (Rajkumar et al., Blood, 2011, 117(18): 4691-5; Kumar et al., Lancet Oncol, 2016,17(8):e328-e346). Критерии можно оценить следующим образом (более подробная информация доступна в Lancet Oncol, 2016,17(8):e328-e346).

		Критерии ответа
Критерии МОБ от MWG (требуется полный ответ, как определено ниже)		
Устойчивая отрицательная	МОБ-	Отрицательность МОБ в костном мозге (NGF или NGS, или и то, и другое) и визуализацией, как определено ниже, подтвердили с интервалом минимум 1 год. Последующие оценки могут быть использованы для уточнения продолжительности отрицательности (например, МОБ-отрицательный через 5 лет)
МОБ-отрицательная на основе цитометрии	на проточной	Отсутствие фенотипически aberrantных клональных плазматических клеток с помощью NGF на аспиратах костного мозга с использованием стандартной операционной процедуры EuroFlow для обнаружения МОБ при множественной миеломе (или утвержденного эквивалентного метода) с минимальной чувствительностью 1 из 10^5 ядерных клеток или выше
МОБ-отрицательная на основе секвенирования	на	Отсутствие клональных плазматических клеток по NGS на аспирате костного мозга, в котором присутствие клона определяется как присутствие менее двух идентичных считываний секвенирования, полученных после ДНК-секвенирования аспириатов костного мозга с использованием платформы LymphoSIGHT (или утвержденного эквивалентного метода) с минимальной чувствительностью 1 в 10^5 ядерных клетках или выше
МОБ-отрицательная на основе визуализации «плюс»	на	МОБ-отрицательность, определяемая по NGF или NGS, плюс исчезновение каждой области индикатора повышенного поглощения, обнаруженное на исходном уровне или предшествующей ПЭТ/КТ, или уменьшение пула крови средостения SUV до меньшего, чем у окружающей нормальной ткани

Стандартные критерии ответа IMWG	
Строгий полный ответ	Полный ответ, как определено ниже, плюс нормальное соотношение FLC и отсутствие клональных клеток при биопсии костного мозга по данным иммуногистохимии (отношение $\kappa/\lambda \leq 4:1$ или $\geq 1:2$ для пациентов с κ и λ , соответственно, после подсчета ≥ 100 плазматических клеток)
Полный ответ	Отрицательная иммунофиксация в сыворотке и моче и исчезновение любых плазмцитом мягких тканей и $<5\%$ плазматических клеток в аспиратах костного мозга
Очень хороший частичный ответ	М-белок в сыворотке и моче, обнаруживаемые с помощью иммунофиксации, но не с помощью электрофореза или $\geq 90\%$ снижения уровня М-белка в сыворотке и моче <100 мг в течение 24 часов
Частичный ответ	Снижение М-белка в сыворотке $\geq 50\%$ и снижение М-белка в моче $\geq 90\%$ или до <200 мг в течение 24 ч.; Если М-белок в сыворотке и моче является неизмеримым, $\geq 50\%$ требуется уменьшение разницы между вовлеченными и невовлеченными уровнями FLC вместо критериев М-белка; Если М-белок в сыворотке и моче является неизмеримым, и облегченный бессывороточный анализ является также неизмеримым, требуется уменьшение плазматических клеток $\geq 50\%$ вместо М-белка, при условии, базовый процент плазматических клеток костного мозга был $\geq 30\%$. В дополнение к данным критериям, также требуется уменьшение размера (SPD) плазмцитом мягких тканей $\geq 50\%$, если они присутствуют на базовой линии
Минимальный ответ	Снижение сывороточного М-белка на $\geq 25\%$, но $\leq 49\%$ и снижение М-белка в суточной моче на 50-89%. В дополнение к перечисленным выше критериям, также требуется уменьшение размера (SPD) плазмцитом мягких тканей $\geq 50\%$, если они присутствуют на базовой линии

Стабильное заболевание	Не рекомендуется для использования в качестве индикатора ответа; устойчивость болезни лучше всего описывается путем оценки времени до прогрессирования заболевания. Несоответствие критериям полного ответа, очень хорошего частичного ответа, частичного ответа, минимального ответа или прогрессирующего заболевания
Прогрессирующее заболевание	<p>Любой один или более из следующих критериев:</p> <p>Увеличение на 25% от самого низкого значения подтвержденного ответа по одному или более из следующих критериев:</p> <p>М-белок сыворотки (абсолютное увеличение должно составлять $\geq 0,5$ г/дл);</p> <p>Увеличение М-белка сыворотки ≥ 1 г/дл, если самый низкий компонент М был ≥ 5 г/дл;</p> <p>М-белок в моче (абсолютное увеличение должно составлять ≥ 200 мг/24 ч);</p> <p>У пациентов без поддающихся измерению уровней М-белка в сыворотке и моче - разница между уровнями вовлеченных и не вовлеченных FLC (абсолютное увеличение должно составлять > 10 мг/дл);</p> <p>У пациентов без измеряемых уровней М-белка в сыворотке и моче и без измеряемых уровней вовлеченных FLC, процент плазматических клеток костного мозга независимо от исходного состояния (абсолютное увеличение должно составлять $\geq 10\%$);</p> <p>Появление нового поражения(ий), увеличение на $\geq 50\%$ от надира в SPD > 1 поражения или увеличение на $\geq 50\%$ самого длинного диаметра предыдущего поражения > 1 см по короткой оси;</p> <p>$\geq 50\%$ увеличение количества циркулирующих плазматических клеток (минимум 200 клеток на мкл), если это единственный показатель заболевания</p>

Клинический рецидив	<p>Клинический рецидив требует наличия одного или более из следующих критериев:</p> <p>Прямые индикаторы увеличения заболевания и/или дисфункции конечных органов (признаки CRAB), связанные с лежащим в основе клональным нарушением пролиферации плазматических клеток. Он не используется для расчета времени до прогрессирования или выживаемости без прогрессирования, но указан как нечто, о чем можно сообщать по желанию или для использования в клинической практике;</p> <p>Развитие новых плазмоцитом мягких тканей или поражений костей (остеопоротические переломы не считаются прогрессированием);</p> <p>Определенное увеличение размера существующих плазмоцитом или костных поражений. Определенное увеличение определяется как увеличение на 50% ($i \geq 1$ см), измеряемое серийно с помощью SPD измеряемого поражения;</p> <p>Гиперкальциемия (> 11 мг/дл);</p> <p>Снижение гемоглобина ≥ 2 г/дл, не связанное с терапией или другими состояниями, не связанными с миеломой;</p> <p>Повышение уровня креатинина сыворотки на 2 мг/дл или более с начала терапии, что может быть связано с миеломой;</p> <p>Гипервязкость, связанная с парапротеином сыворотки</p>
Рецидив после полного ответа (используется только в том случае, если конечной точкой является выживаемость без заболевания)	<p>Любой один или более из следующих критериев:</p> <p>Повторное появление М-белка в сыворотке или моче при иммунофиксации или электрофорезе;</p> <p>Развитие $\geq 5\%$ плазматических клеток в костном мозге;</p> <p>Появление любых других признаков прогрессирования (например, новой плазмоцитомы, литического поражения кости или гиперкальциемии, см. выше)</p>
Рецидив после МОБ-отрицательного (используется только в том случае, если конечной точкой является выживаемость без заболевания)	<p>Любой один или более из следующих критериев:</p> <p>Потеря МОБ-отрицательного (свидетельство наличия клональных плазматических клеток на NGF или NGS, или положительное визуализационное исследование на предмет рецидива миеломы);</p> <p>Повторное появление М-белка в сыворотке или моче при иммунофиксации или электрофорезе;</p> <p>Развитие $\geq 5\%$ клональных плазматических клеток в костном мозге;</p> <p>Появление любых других признаков прогрессирования (например, новой плазмоцитомы, литического поражения кости или гиперкальциемии)</p>

ОЗ=минимальное остаточное заболевание. NGF=проточная цитометрия следующего поколения. NGS= секвенирование следующего поколения. FLC=свободная легкая цепь. М-белок=миеломный белок. SPD=сумма произведений максимальных перпендикулярных диаметров измеренных повреждений. Признаки CRAB=повышение уровня кальция, почечная недостаточность, анемия, литические поражения костей. FCM=проточная цитометрия. SUVmax=максимальное стандартизованное значение поглощения. ^{18}F -FDG PET= ^{18}F -фтордезоксиглюкоза PET.

В некоторых вариантах осуществления лечение множественной миеломы также может быть оценено с помощью международных критериев равномерного ответа для множественной миеломы (IURC) (см. Durie BGM, Harousseau J-L, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006; (10) 10: 1-7), используя определение отклика и конечной точки, как показано ниже:

Подкатегория Ответа	Критерии ответа ^a
сПО	ПО как определено ниже и Обычное соотношение FLC и Отсутствие клональных клеток в костном мозге ^b с помощью иммуногистохимии или иммунофлуоресценции ^c
ПО	Отрицательная иммунофиксация в сыворотке и моче и Исчезновение любых плазмочитом мягких тканей и <5% плазматических клеток в костном мозге ^b
ОХЧО	М-белок в сыворотке и моче, обнаруживаемые с помощью иммунофиксации, но не с помощью электрофореза или 90% или более снижения уровня М-белка в сыворотке и моче <100 мг в течение 24 часов
ЧО	Снижение М-белка в сыворотке $\geq 50\%$ и снижение М-белка в моче $\geq 90\%$ или до <200 мг в течение 24 часов Если М-белок в сыворотке и моче является неизмеримым, ^d $\geq 50\%$ требуется уменьшение разницы между вовлеченными и невовлеченными уровнями FLC вместо критериев М-белка Если М-белок в сыворотке и моче является неизмеримым, и облегченный бессывороточный анализ является также неизмеримым, требуется уменьшение плазматических клеток $\geq 50\%$ вместо М-белка, при условии, базовый процент плазматических клеток костного мозга был $\geq 30\%$ В дополнение к перечисленным выше критериям, также требуется уменьшение размера плазмочитом мягких тканей $\geq 50\%$, если они присутствуют на базовой линии
СЗ (не рекомендуется для использования в качестве индикатора ответа; устойчивость болезни лучше всего описывается путем оценки времени до прогрессирования заболевания)	Не отвечающее критериям ПО, ОХЧО, ЧО или прогрессирующее заболевание

Сокращения: ПО, полный ответ; FLC, свободная легкая цепь; ЧО, частичный ответ; СЗ, стабилизация заболевания; сПО, строгий полный ответ; ОХЧО, очень хороший частичный ответ.

^a Все категории ответа требуют две последовательных оценки, сделанных в любое время до учреждения любой новой терапии; все категории также требуют доказательство отсутствия прогрессирующих или новых костных повреждений, если были проведены рентгенологические исследования. Рентгенологические исследования не требуется для удовлетворения данных требований к ответу.

^b Подтверждение с повторной биопсией костного мозга не требуется.

^c Наличие/отсутствие клональных клеток основывается на соотношении к/λ. Аномальное соотношение к/λ по данным иммуногистохимии и/или иммунофлуоресценции требует минимум 100 плазматических клеток для анализа. Аномальное соотношение, отражающее наличие аномального клона, представляет собой к/λ >4:1 или <1:2.

^d Поддающееся измерению заболевание определяется по меньшей мере одним из следующих показателей: плазматические клетки костного мозга $\geq 30\%$; сывороточный М-белок ≥ 1 г/дл (≥ 10 г/л) [10 г/л]; М-белок в моче ≥ 200 мг/24 ч; анализ FLC в сыворотке: уровень вовлеченных FLC ≥ 10 мг/дл (≥ 100 мг/л); при условии, что соотношение FLC в сыворотке ненормально.

Применяемый в данном документе статус по шкале ECOG относится к общесоматическому статусу по шкале Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) (Oken M, et al Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol 1982;5(6):649-655), проиллюстрированной ниже:

Балл	Описание
0	Полностью активен, способен выполнять все, как и до заболевания без ограничения
1	Ограничен в активности выполнять физически тяжелую работу, но может выполнять легкую или сидячую работу, например, легкую работу по дому, офисную работу.
2	Проходит лечение амбулаторно и способен к самообслуживанию, но не может выполнять какую-либо работу. Более 50% времени бодрствования проводит активно - в вертикальном положении.
3	Способен лишь к ограниченному самообслуживанию, проводит в кресле или постели более 50% времени бодрствования.
4	Полностью нетрудоспособный. Совершенно не способен к самообслуживанию. Полностью прикован к постели или креслу
5	Мертв

В контексте данного документа термин "около", если не указано иное, при использовании вместе с числовым значением или диапазоном значений, указывает, что значение или диапазон значений могут отклоняться до степени, которая считается разумной для специалиста в данной области техники. В одном варианте осуществления термин "около" означает, что числовое значение или диапазон значений может варьировать в пределах 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5% или 0,25% от указанного значения или диапазона значений. В одном варианте осуществления термин "около" относится к значению, которое не более чем на 10% больше или меньше значения, изменяемого этим термином. Например, термин "около 10 мг/м²" означает диапазон от 9 до 11 мг/м².

Термины "BCMA", "целевой BCMA", "BCMA человека", используемые в данном документе, относятся к антигену созревания В-клеток человека, также известному как BCMA, TR17_HUMAN, TNFRSF17 (UniProt Q02223), который является членом семейства рецепторов некроза опухоли, которые предпочтительно экспрессируются в дифференцированных клетках плазмы. Внеклеточный домен BCMA состоит, согласно UniProt, из аминокислот 1-54 (или 5-51). В контексте данного документа термины "антитело к BCMA", "антитело к BCMA" относятся к антителу, специфически связывающемуся с внеклеточным доменом BCMA.

Термины "специфическое связывание с BCMA" или "связывание с BCMA" относятся к антителу, которое способно связываться с целевым BCMA с достаточной аффинностью, так что антитело можно использовать в качестве терапевтического агента для воздействия на BCMA. В некоторых вариантах осуществления степень связывания антитела к BCMA с неродственным белком, не являющимся BCMA, примерно в 10 раз, предпочтительно в > 100 раз меньше, чем связывание антитела с BCMA, что измерено, например, с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР) например Biacore®, иммуноферментного анализа (ИФА) или проточной цитометрии (FACS). В одном варианте осуществления антитело, которое связывается с BCMA, имеет константу диссоциации (Kd), равную 10⁻⁸ М или менее, в одном варианте осуществления от 10⁻⁸ М до 10⁻¹³ М, в одном варианте осуществления от 10⁻⁹ М до 10⁻¹³ М. В одном варианте осуществления антитело к BCMA связывается с эпитопом BCMA, который является консервативным среди BCMA различных видов, в одном варианте осуществления среди человека и яванского макака, а в дополнительном варианте осуществления также с BCMA мыши и крысы. Термины "биспецифическое антитело, специфически связывающееся с CD3 и BCMA", "биспецифическое антитело к CD3 и BCMA" относятся к соответствующему определению связывания с обеими мишенями. Антитело, специфически связывающееся с BCMA (или BCMA и CD3), не связывается с другими человеческими антигенами. Следовательно, в ИФА значения OD для таких несвязанных мишеней будут равны или ниже предела обнаружения конкретного анализа, в одном варианте осуществления > 0,3 нг/мл или равны или ниже значениям OD контрольных образцов связанного с планшетом BCMA или с нетрансфицированными клетками FIEK293.

В контексте данного документа термин "APRIL" относится к рекомбинантному усеченному APRIL мыши (аминокислоты 6-10241; NP_076006). APRIL можно производить, как описано в Ryan, 2007 (Mol Cancer Ther; 6 (11): 3009-18).

В контексте данного документа термин "BAFF" относится к рекомбинантному усеченному BAFF человека (UniProt Q9Y275 (TN13B_HUMAN)), который может быть получен, как описано в Gordon, 2003 (Biochemistry; 42 (20): 5977-5983). В одном варианте осуществления согласно изобретению используется BAFF с His-меткой.

В одном варианте осуществления BAFF с His-меткой получают путем клонирования фрагмента ДНК, кодирующего остаток BAFF 82-285, в вектор экспрессии, слияние с N-концевой His-меткой, за которой следует сайт расщепления тромбином, экспрессии указанного вектора и расщепления восстановленного белка тромбином.

Термин "антитело к CD3", "антитело к CD3" относится к антителу, специфически связывающемуся с CD3. В одном варианте осуществления антитело специфически связывается с CD3ε. В контексте данного документа, термин "CD3ε" или "CD3" относится к CD3ε человека, описанному в UniProt P07766 (CD3ε_HUMAN).

В контексте данного документа, термин "антитело" относится к моноклональному антителу. Антитело состоит из двух пар "легких цепей" (LC) и "тяжелых цепей" (HC) (такие пары легкой цепи (LC)/тяжелой цепи сокращенно обозначены в данном документе как LC/HC). Легкие и тяжелые цепи таких антител представляют собой полипептиды, состоящие из нескольких доменов. Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно обозначаемую в данном документе как HCVR или VH) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит константные домены тяжелой цепи CH1, CH2 и CH3 (классы антител IgA, IgD и IgG) и, необязательно, константный домен тяжелой цепи CH4 (классы антител IgE и IgM). Каждая легкая цепь содержит переменный домен легкой цепи VL и константный домен легкой цепи CL. Переменные домены VH и VL могут быть дополнительно поделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающиеся более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. "Константные домены" тяжелой цепи и легкой цепи не участвуют напрямую в связывании антитела с мишенью, но проявляют различные эффекторные функции. В контексте данного документа, термин "антитело" включает также часть антитела, которая необходима, по меньшей мере, для специфического связывания с антигеном CD3, соответств. BCMA. Следовательно, такое антитело (или часть антитела) в одном варианте осуществления может быть Fab-фрагментом, если указанная часть антитела входит в состав биспецифического антитела согласно изобретению. Антитело по изобретению также может представлять собой Fab', F(ab')₂, scFv, di-scFv или биспецифический активатор Т-клеток (BiTE®).

Термин "антитело" включает, например, мышинные антитела, человеческие антитела, химерные антитела, гуманизированные антитела и генно-инженерные антитела (вариантные или мутантные антитела) до тех пор, пока сохраняются их характерные свойства. В одном варианте осуществления антитела представляют собой человеческие или гуманизированные антитела, особенно в виде рекомбинантных человеческих или гуманизированных антител. Дополнительные варианты осуществления представляют собой гетероспецифические антитела (биспецифические, триспецифические и т.д.) и другие конъюгаты, например с цитотоксическими малыми молекулами.

Форматы биспецифических антител хорошо известны в данной области техники и, например, также описаны в Kontermann RE, mAbs 4:2 1-16 (2012); Holliger P., Hudson PJ, Nature Biotech.23 (2005) 1126-1136 и Chan AC, Carter PJ Nature Reviews Immunology 10, 301-316 (2010), и Cuesta AM et al., Trends Biotech 28 (2011) 355-362. В контексте данного документа, термин "биспецифическое антитело" относится в одном варианте к антителу, в котором одна из двух пар тяжелой цепи и легкой цепи (HC/LC) специфически связывается с CD3, а другая специфически связывается с BCMA. Этот термин также относится к другим форматам биспецифических антител в соответствии с уровнем техники. В одном варианте осуществления термин "биспецифическое антитело" включает биспецифические одноцепочечные антитела, такие как антитела в формате BiTE®, антитела DART, диатела, тандемные scFv и миметики антител, такие как DARP-ины. В одном варианте осуществления биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), является одним из антител, описанных в публикации международной заявки № WO 2018/083204, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

В контексте данного документа, термин "ТСВ" относится к биспецифическому антителу, специфически связывающемуся с BCMA и CD3. В контексте данного документа, термин "83A10-ТСВсв" относится к биспецифическому антителу, специфически связывающемуся с BCMA и CD3, как определено комбинацией его тяжелой и легкой цепей SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47 (2x) и SEQ ID NO: 48, что показано на фиг. 2A и описано в EP 14179705. В контексте данного документа, термины "21-ТСВсв", "22-ТСВсв", "42-ТСВсв" относятся к соответствующим биспецифическим антителам Mab21, что определяется комбинацией его тяжелой и легкой цепей с SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50 и SEQ ID NO: 51 (2x), Mab 22, что определяется комбинацией его тяжелой и легкой цепей с SEQ ID NO:48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 и SEQ ID NO: 54 (2x), и Mab42, что определяется комбинацией его тяжелой и легкой цепей с SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56 и SEQ ID NO: 57-(2x).

В. Краткое описание фигур

Фиг. 1A и 1B: Биспецифические двухвалентные антитела, содержащие только Fab-фрагменты (специфичные для CD3 и BCMA) и Fc-часть, как указано: (фиг. 1A) Fab BCMA(RK/EE)-Fc-Fab CD3; (фиг. 1B) Fab BCMA-Fc-Fab CD3(RK/EE). Аминокислотные замены для RK/EE, введенные в CL-CH1, для уменьшения количества ошибочно спаренных/побочных продуктов LC в производстве. CD3 Fab содержит кроссовер VL-VH для уменьшения количества ошибочно спаренных LC и побочных продуктов.

Фиг. 2A-2D: Предпочтительные биспецифические трехвалентные антитела, содержащие только

Fab-фрагменты (специфичные для CD3 и BCMA) и Fc-часть, как указано: (фиг. 2A) Fab BCMA(RK/EE)-Fc-Fab CD3-Fab BCMA(RK/EE); (фиг. 2B) Fab BCMA-Fc-Fab CD3(RK/EE)-Fab BCMA; (фиг. 2C) Fab BCMA(RK/EE)-Fc-Fab BCMA(RK/EE)-Fab CD3; (фиг. 2D) Fab BCMA-Fc-Fab BCMA-Fab CD3(RK/EE). Аминокислотные замены для RK/EE, введенные в CL-CH1, для уменьшения количества ошибочно спаренных/побочных продуктов LC в производстве. Предпочтительно CD3 Fab содержит кроссовер VL-VH для уменьшения количества ошибочно спаренных LC и побочных продуктов. Предпочтительно Fab CD3 и Fab BCMA связаны друг с другом гибкими линкерами.

Фиг. 3A-3D: Биспецифические бивалентные антитела, содержащие только Fab-фрагменты (специфичные для CD3 и BCMA) и Fc-часть, как указано: (фиг. 3A) Fc-Fab CD3-Fab BCMA(RK/EE); (фиг. 3B) Fc-Fab CD3(RK/EE)-Fab BCMA; (фиг. 3C) Fc-Fab BCMA(RK/EE)-Fab CD3; (фиг. 3D) Fc-Fab BCMA-Fab CD3(RK/EE). Предпочтительно CD3 Fab содержат кроссовер VL-VH для уменьшения количества ошибочно спаренных LC и побочных продуктов. Fab CD3 и Fab BCMA связаны друг с другом гибкими линкерами.

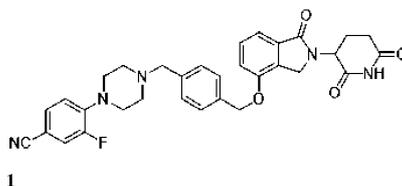
На фиг. 4A-4C показано, что предварительная обработка эффекторных Т-клеток или клеток множественной миеломы (ММ) или клеток-мишеней PCL Соединением 2 увеличивает эффективность, а в некоторых линиях клеток также увеличивает максимальное уничтожение клеток-мишеней, достигаемое с помощью биспецифических антител, специфически связывающихся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с человеческим CD3ε (CD3), предложенными в данном документе. Эффекторные Т-клетки (CD3+) предварительно обрабатывали ДМСО (контроль) или Соединением 2 (1 нМ) в течение 16 ч, затем промывали и использовали для совместных культур. Линии клеток-мишеней H929 (фиг. 4A), L363 (фиг. 4B) и OPM-2 (фиг. 4C) предварительно обрабатывали ДМСО (контроль) или Соединением 2 (1 нМ) в течение 72 ч, затем промывали и использовали для совместного культивирования при соотношении эффекторных Т-клеток (Е) к клеткам-мишеням (Т) составляющем 1:3, 1:1 и 1:5 соответственно. Линии "ДМСО-ДМСО": клетки-мишени и эффекторные клетки, предварительно обработанные ДМСО (контроль). Линии "Соединение 2-ДМСО": клетки-мишени, предварительно обработанные Соединением 2, эффекторные клетки, предварительно обработанные ДМСО (контроль). Линии "ДМСО-Соединение 2": клетки-мишени, предварительно обработанные ДМСО (контроль), эффекторные клетки, предварительно обработанные Соединением 2. Линии "Соединение 2-Соединение 2": как целевые, так и эффекторные клетки, предварительно обработанные Соединением 2. Ось у представляет процентное соотношение живых опухолевых клеток, приведенных к количеству живых клеток в отсутствие биспецифических антител; ось х представляет log[концентрация] биспецифического антитела в пМ.

На фиг. 5 показано, что Соединение 2 увеличивает эффективность и максимальное уничтожение клеток-мишеней, достигаемое биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе. Эффекторные Т-клетки (CD3+) от трех разных доноров совместно культивировали с линией клеток-мишеней ММ H929 при фиксированном соотношении эффекторных Т-клеток (Е) и клеток-мишеней (Т) 1:3 в присутствии ДМСО (контроль) или Соединения 2 (1 нМ) в течение 72 ч. Ось у представляет процентное соотношение живых опухолевых клеток, приведенных к количеству живых клеток в отсутствие биспецифического антитела; ось х представляет log[концентрация] биспецифического антитела в пМ.

На фиг. 6 показано, что предварительная обработка устойчивых к леналидомиду клеток множественной миеломы Соединением 2, но не помалидомидом, увеличивает эффективность и максимальное уничтожение клеток-мишеней, достигаемое биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе. Линию клеток-мишеней H929-1051 предварительно обрабатывали ДМСО (контроль), помалидомидом (100 нМ) или Соединением 2 (1 нМ) в течение 72 ч, затем промывали и использовали для совместного культивирования при соотношении эффекторных Т-клеток (Е) и клеток-мишеней (Т) 1:3. Ось у представляет процент живых опухолевых клеток, нормализованный к количеству живых клеток в отсутствие биспецифических антител; ось х представляет log[концентрация] биспецифического антитела в пМ.

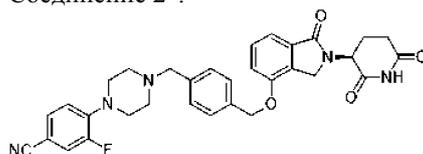
С. Соединения

Для применения в способах, предложенных в данном документе, предложено соединение 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил, именуемое как "Соединение 1":



или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль.

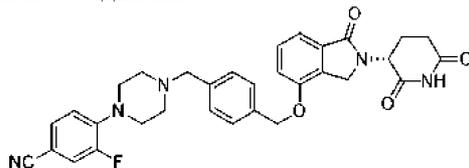
Для применения в способах, предложенных в данном документе, также предложено соединение (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил, именуемое как "Соединение 2":



2

или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль.

Для применения в способах, предложенных в данном документе, также предложено соединение (R)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил, именуемое как "Соединение 3":



3

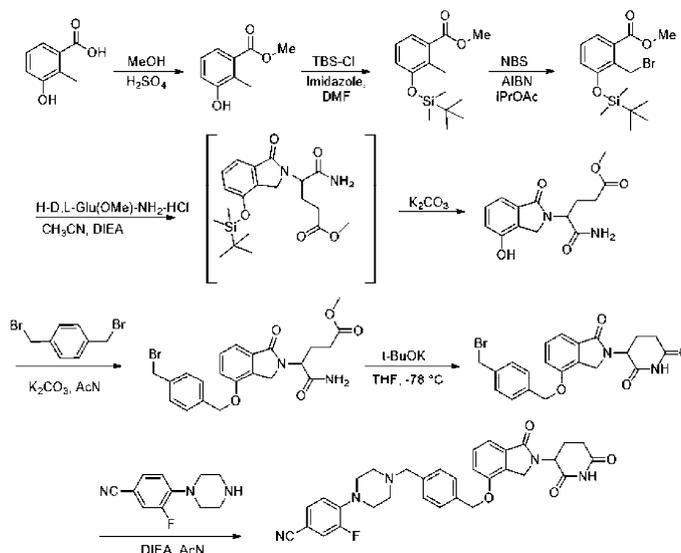
или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль.

D. Получение соединения 1, 2 и 3

Соединения для применения в способах, предложенных в данном документе, могут быть получены способами, известными специалисту в данной области техники, и следующими методиками, аналогичными методикам, описанным в разделе примеры в данном документе, и их обычными модификациями. Типичная схема реакций для получения данных соединений проиллюстрирована ниже на схеме 1 для соединения 1, соединения 2 и соединения 3 и на схеме 2 для соединения 2.

Как показано на схеме 1, после защиты 3-гидрокси-2-метилбензойной кислоты (с помощью, например, образования метилового эфира и трет-бутил(диметил)силилового эфира) следовало бромирование, например, с использованием N-бромсукцинимидом и азобисизобутиронитрилом. Реакция с метил-4,5-диамино-5-оксопентаноатом в присутствии основания (такого как ДИПЭА), приводила к получению производного изоиндолина, за которым следовало удаление защитной группы TBS с использованием основания, такого как карбонат калия. После реакции замещенного изоиндолина с 1,4-бис(бромметил)бензолом в присутствии основания (такого как карбонат калия), следовало образование глутаримида в присутствии трет-бутоксид калия. Наконец, реакция с 3-фтор-4-(пиперазин-1-ил)бензонитрилом приводила к получению целевого соединения 1. Затем с помощью хирального разделения получали соединение 2 и соединение 3.

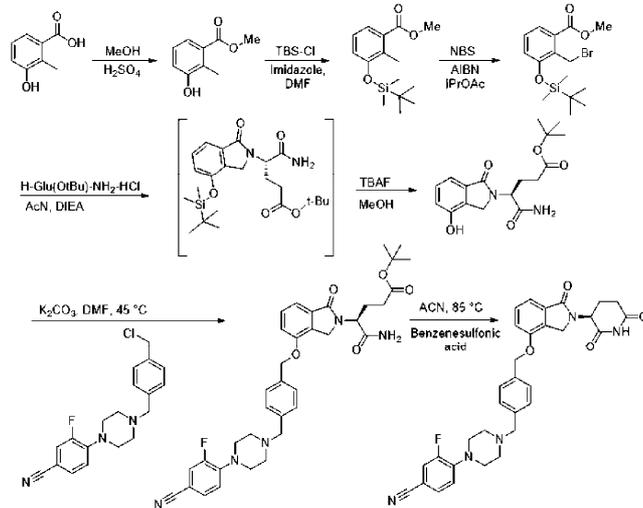
Схема 1



В альтернативном варианте, как проиллюстрировано на схеме 2, реакция промежуточного соединения метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоата с хиральным трет-бутил (4S)-4,5-диамино-5-оксо-пентаноатом в присутствии основания (такого как ДИПЭА), приводит к получению замещенного изоиндолина, за которым следовало снятие TBS защитной группы с использованием тетрабу-

тиламмоний фторида. После реакции замещенного изоиндолина с 4-(4-(4-(хлорметил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрилом в присутствии основания (такого как карбонат калия), следовало образованием глутаримида с получением целевого соединения 2.

Схема 2



Специалисту в данной области техники будет понятно, как изменить методики, изложенные в иллюстративных схемах и примерах, чтобы получить желаемые продукты.

Е. Биспецифическое антитело, специфически связывающееся с ВСМА и CD3

Предложенное для применения в способах в данном документе биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3).

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), причем указанная первая связывающая часть содержит 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

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), причем указанная первая связывающая часть содержит 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:

- a) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26, или
- b) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления первая связывающая часть содержит 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, область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24.

В одном варианте осуществления первая связывающая часть содержит 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, область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26.

В одном варианте осуществления первая связывающая часть содержит 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, область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), причем первая связывающая часть содержит область VH с SEQ ID NO: 10 и область VL с SEQ ID NO: 12, область VH с SEQ ID NO: 10 и область VL с SEQ ID NO: 13 или область VH с SEQ ID NO: 10 и область VL с SEQ ID NO: 14.

В одном из вариантов осуществления первая связывающая часть содержит область VH с SEQ ID

NO: 10 и область VL с SEQ ID NO: 12.

В одном из вариантов осуществления первая связывающая часть содержит область VH с SEQ ID NO: 10 и область VL с SEQ ID NO: 13.

В одном из вариантов осуществления первая связывающая часть содержит область VH с SEQ ID NO: 10 и область VL с SEQ ID NO: 14.

В одном варианте осуществления первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит область VL, выбранную из группы, состоящей из областей VL с SEQ ID NO: 12, 13 и 14, где аминокислота 49 выбрана из группы аминокислот тирозина (Y), глутаминовой кислоты (E), серина (S) и гистидина (H). В одном варианте осуществления аминокислота 49 представляет собой E в SEQ ID NO: 12, S в SEQ ID NO: 13 или H в SEQ ID NO: 14.

В одном варианте осуществления первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит область VL, выбранную из группы, состоящей из областей VL с SEQ ID NO: 12, 13 и 14, где аминокислота 74 представляет собой треонин (T) или аланин (A). В одном варианте осуществления аминокислота 74 представляет собой A в SEQ ID NO: 14.

В одном варианте осуществления первая связывающая часть характеризуется тем, что в качестве VH ВСМА содержит область VH с SEQ ID NO: 10.

В одном варианте осуществления первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит область VL, выбранную из группы, состоящей из областей VL с SEQ ID NO: 12, 13 и 14, где аминокислота 49 выбрана из группы аминокислот тирозина (Y), глутаминовой кислоты (E), серина (S) и гистидина (H). В одном варианте осуществления аминокислота 49 представляет собой E (SEQ ID NO: 12), S (SEQ ID NO: 13) или H (SEQ ID NO: 14). В одном варианте осуществления изобретения первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит область VL, выбранную из группы, состоящей из областей VL с SEQ ID NO: 12, 13 и 14, где аминокислота 74 представляет собой треонин (T) или аланин (A). В одном варианте осуществления аминокислота 74 представляет собой A в SEQ ID NO: 14.

В одном варианте осуществления первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит область CDR3H с SEQ ID NO: 17 и область CDR3L с SEQ ID NO: 20 и комбинацию областей CDR1H, CDR2H, CDR1L и CDR2L, выбранных из группы а) области CDR1H с SEQ ID NO: 21 и области CDR2H с SEQ ID NO: 22, области CDR1L с SEQ ID NO: 23 и области CDR2L с SEQ ID NO: 24, б) области CDR1H с SEQ ID NO: 21 и области CDR2H с SEQ ID NO: 22, области CDR1L с SEQ ID NO: 25 и области CDR2L с SEQ ID NO: 26, в) области CDR1H с SEQ ID NO: 21 и области CDR2H с SEQ ID NO: 22, области CDR1L с SEQ ID NO: 27 и области CDR2L с SEQ ID NO: 28, д) области CDR1H с SEQ ID NO: 29 и области CDR2H с SEQ ID NO: 30, области CDR1L с SEQ ID NO: 31 и области CDR2L с SEQ ID NO: 32, е) области CDR1H с SEQ ID NO: 34 и области CDR2H с SEQ ID NO: 35, области CDR1L с SEQ ID NO: 31 и области CDR2L с SEQ ID NO: 32, и ф) области CDR1H с SEQ ID NO: 36 и области CDR2H с SEQ ID NO: 37, области CDR1L с SEQ ID NO: 31 и области CDR2L с SEQ ID NO: 32.

В одном варианте осуществления первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит в качестве области VH область VH, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38, 39 и 40. В одном варианте осуществления изобретения первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит в качестве области VH область VH с SEQ ID NO: 38 и в качестве области VL область VL с SEQ ID NO: 12. В одном варианте осуществления изобретения первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит в качестве области VH область VH с SEQ ID NO: 39 и в качестве области VL область VL с SEQ ID NO: 12. В одном варианте осуществления изобретения первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит в качестве области VH область VH с SEQ ID NO: 40 и в качестве области VL область VL с SEQ ID NO: 12.

В одном варианте осуществления первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит область CDR1H с SEQ ID NO: 15, область CDR2H с SEQ ID NO: 16, область CDR3H с SEQ ID NO: 17, область CDR1L с SEQ ID NO: 18, область CDR2L с SEQ ID NO: 19 и область CDR3L с SEQ ID NO: 20.

Первая связывающая часть по изобретению содержит в качестве областей CDR3H и CDR3L те же области CDR, что и антитело 83A10 (для антитела 83A10 см. табл. 1А и В далее в тексте).

В одном варианте осуществления первая связывающая часть характеризуется тем, что содержит в качестве области VH область VH с SEQ ID NO: 9 и в качестве области VL область VL с SEQ ID NO: 11.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит не более одного Fab-фрагмента части антитела к CD3-, не более двух Fab-фрагментов части антитела к ВСМА и не более одной части Fc, в одном варианте осуществления Fc-часть человека. В одном варианте осуществления не более одного Fab-фрагмента части антитела к CD3 и не более одного Fab-фрагмента части антитела к ВСМА связаны с Fc-частью, и связывание осуществляется посредством С-концевого связывания Fab-фрагмента(ов) с шарнирной областью. В одном варианте осуществления второй Fab-фрагмент части антитела к ВСМА связан своим С-концом либо с N-концом Fab-фрагмента части антитела к CD3, либо с шарнирной областью части Fc и, следовательно, между частью Fc и частью антитела к CD3. Предпочтительные биспецифические антитела представлены на фиг. 1А, 1В, 2А-2D и 3А-3D

Особенно предпочтительными являются биспецифические антитела, содержащие только Fab-фрагменты и Fc-часть с или без "аминокислотной замены": Fab ВСМА-Fc-Fab. CD3 (биспецифический

формат фиг. 1А или фиг. 1В), Fab BCMA-Fc-Fab CD3-Fab BCMA (биспецифический формат фиг. 2А или фиг. 2В), Fab BCMA-Fc-Fab BCMA-Fab CD3 (биспецифический формат фиг. 2С или фиг. 2D), Fc-Fab CD3-Fab BCMA (биспецифический формат фиг. 3А или фиг. 3В), Fc-Fab BCMA-Fab CD3 (биспецифический формат фиг. 3С или фиг. 3D).

Как показано на фиг. 1А, 1В, с 2А по 2D и с 3А по 3D, "Fab BCMA-Fc", "Fab BCMA-Fc-Fab CD3" и "Fab BCMA-Fc-Fab CD3" означают, что фрагмент(ы) Fab связан (связаны) через его (их) С-конец с N-концом Fc-фрагмента. "Fab CD3-Fab BCMA" означает, что Fab-фрагмент CD3 связан своим N-концом с С-концом Fab-фрагмента BCMA. "Fab BCMA-Fab CD3" означает, что Fab-фрагмент BCMA связан своим N-концом с С-концом Fab-фрагмента CD3.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит второй Fab-фрагмент указанного антитела к BCMA, связанный своим С-концом с N-концом части антитела к CD3 указанного биспецифического антитела. В одном варианте осуществления домен VL указанного первого участка антитела к CD3 связан с доменом CH1 или CL указанного второго антитела к BCMA.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит второй Fab-фрагмент указанного антитела к BCMA, связанный своим С-концом с частью Fc (подобно первому фрагменту Fab указанного антитела к BCMA) и связанный своим N-концом с С-концом участка антитела к CD3. В одном варианте осуществления домен CH1 указанной части антитела к CD3 связан с доменом VH указанной второй части антитела к BCMA.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит часть Fc, связанную своим N-концом с С-концом Fab-фрагмента указанного антитела к CD3. В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит Fc-часть, связанную своим первым N-концом с С-концом указанного Fab-фрагмента антитела к CD3, и второй Fab-фрагмент указанного антитела к BCMA, связанный своим С-концом со вторым N-концом Fc-части. В одном варианте осуществления домен CL Fab-фрагмента антитела к CD3 связан с шарнирной областью Fc-части. В одном варианте осуществления домен CH1 Fab-фрагмента антитела к BCMA связан с шарнирной областью Fc-части.

Фрагменты Fab связывают вместе с помощью подходящего линкера в соответствии с уровнем техники. В одном варианте используется линкер (Gly4-Ser1) 3 (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). Поскольку линкер представляет собой пептидный линкер, такое ковалентное связывание обычно осуществляется методами биохимической рекомбинации с использованием нуклеиновой кислоты, кодирующей домены VL и/или VH соответствующих фрагментов Fab, линкера и, если необходимо, цепи Fc-части.

В одном из вариантов осуществления антитело к CD3ε содержит варибельный домен VH, содержащий CDR тяжелой цепи с SEQ ID NO: 1, 2 и 3, как соответственно CDR1H, CDR2H и CDR3H тяжелой цепи, и VL варибельного домена, содержащий CDR легкой цепи с SEQ ID NO: 4, 5 и 6 обозначают CDR1L, CDR2L и CDR3L легкой цепи соответственно. В одном варианте осуществления антитело содержит варибельные домены SEQ ID NO: 7 (VH) и SEQ ID NO: 8 (VL).

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело характеризуется тем, что варибельные домены части антитела к CD3 представляют собой SEQ ID NO:7 и 8.

В одном варианте осуществления изобретения биспецифическое антитело характеризуется тем, что часть антитела к CD3-(вторая связывающая часть биспецифического антитела) связана своим N-концом с С-концом части антитела к BCMA (первая связывающая часть биспецифического антитела) и варибельные домены VL и VH части антитела к CD3 или константные домены CL и CH1 заменяются друг на друга.

В одном варианте осуществления домен VH указанной части антитела к CD3 связан с доменом CH1 или CL указанной части антитела к BCMA. В одном варианте осуществления домен VL указанной части антитела к CD3 связан с доменом CH1 или CL указанной части антитела к BCMA.

В одном варианте осуществления такая часть антитела представляет собой Fab-фрагмент соответствующего антитела.

Биспецифическое антитело к BCMA и CD3 в одном варианте характеризуется тем, что оно содержит

легкую цепь и тяжелую цепь антитела, специфически связывающуюся с одной из указанных мишеней CD3 и BCMA; и

легкую цепь и тяжелую цепь антитела, специфически связывающиеся с другой из указанных мишеней, причем варибельные домены VL и VH или константные домены CL и CH1 заменены друг на друга.

В одном варианте осуществления домен VH указанной части антитела к CD3 связан с доменом CH1 или CL указанной части антитела к BCMA. В одном варианте осуществления домен VL указанной части антитела к CD3 связан с доменом CH1 или CL указанной части антитела к BCMA.

В дополнительном варианте осуществления биспецифическое антитело, в котором варибельные домены VL и VH в легкой цепи и соответствующей тяжелой цепи части антитела к CD3 или части антитела к BCMA заменены друг на друга, характеризуется тем, что содержит константный домен CL части антитела к CD3 или части антитела к BCMA, где аминокислота в положении 124 независимо замещена лизином (K), аргинином (R) или гистидином (H) (нумерация по Kabat), и в соответствующем констант-

ном домене СН1, аминокислота в положении 147 и аминокислота в положении 213 независимо замещены глутаминовой кислотой (Е) или аспарагиновой кислотой (D). В одном варианте осуществления антитело является моновалентным по связыванию с CD3. В одном варианте осуществления, в дополнение к замене аминокислоты в положении 124 в константном домене CL, аминокислота в положении 123 независимо замещена лизином (K), аргинином (R) или гистидином (H) (далее называемым "обмен заряженного варианта"). В одном варианте осуществления антитело является моновалентным в отношении связывания CD3, а аминокислота 124 представляет собой K, аминокислота 147 представляет собой E, аминокислота 213 представляет собой E, а аминокислота 123 представляет собой R. В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит, кроме прочего, еще одну ту же связывающую ВСМА часть (в одном варианте осуществления Fab-фрагмент). Это также означает, что если первая связывающая часть к ВСМА содержит обмен заряженного варианта, то вторая связывающая часть к ВСМА содержит такой же обмен заряженного варианта. (Вся нумерация аминокислот осуществляется по Kabat).

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело характеризуется тем, что содержит:

а) первую легкую цепь и первую тяжелую цепь первого антитела, которое специфически связывается с ВСМА; и

б) вторую легкую цепь и вторую тяжелую цепь второго антитела, которые специфически связываются с CD3, при этом переменные домены VL и VH во второй легкой цепи и второй тяжелой цепи второго антитела заменены друг на друга; и

с) при этом в константном домене CL первой легкой цепи согласно а) аминокислота в положении 124 независимо замещена лизином (K), аргинином (R) или гистидином (H) (нумерация по Kabat), и при этом в константе домен СН1 первой тяжелой цепи под а) аминокислотой в положении 147 и аминокислотой в положении 213 независимо замещены глутаминовой кислотой (Е) или аспарагиновой кислотой (D) (нумерация по Kabat) (см., например, фиг. 1А, 2А, 2С, 3А, 3С).

В одном варианте осуществления, указанное биспецифическое антитело, описанное в последнем предыдущем абзаце, дополнительно характеризуется тем, что указанное биспецифическое антитело содержит, кроме прочего, Fab-фрагмент указанного первого антитела (далее также называемого "ВСМА-Fab"), а в константном домене CL указанный ВСМА-Fab аминокислота в положении 124 независимо замещена лизином (K), аргинином (R) или гистидином (H) (нумерация по Kabat), и при этом в константном домене СН1 указанного ВСМА-Fab аминокислота в положениях 147 и аминокислота в положении 213 независимо замещена глутаминовой кислотой (Е) или аспарагиновой кислотой (D) (нумерация по Kabat) (см., например, фиг. 2А, 2С).

В одном варианте осуществления изобретения биспецифическое антитело состоит из одного CD3-Fab, одного ВСМА-Fab и части Fc, где CD3-Fab и ВСМА-Fab связаны своими C-концами с шарнирной областью указанной части Fc и второй ВСМА-Fab, который связан своим C-концом с N-концом CD3-Fab. CD3-Fab содержит кроссовер, и либо CD3-Fab, либо оба ВСМА-Fab содержат аминокислотную замену (фиг. 2А и 2В). Особенно предпочтительным является биспецифическое антитело, содержащее ВСМА-Fab-Fc-CD3-Fab-ВСМА-Fab, где оба ВСМА-Fab содержат аминокислотную замену, а CD3-Fab содержит кроссовер VL/VH. (фиг. 2А). Особенно предпочтительным является биспецифическое антитело, состоящее из ВСМА-Fab-Fc-CD3-Fab-ВСМА-Fab, где оба ВСМА-Fab содержат аминокислотную замену Q124K, E123R, K147E и K213E, а CD3-Fab содержит кроссовер VL/VH. Особенно предпочтительно, чтобы оба ВСМА-Fab содержали в качестве CDR CDR антитела 21, 22 или 42, или как VH/VL, VH/VL антитела 21, 22 или 42 (для антител 21, 22 и 42 см. табл. 1 А. и В далее по тексту).

Первый и второй Fab-фрагменты антитела, специфически связывающиеся с ВСМА, в одном варианте являются производными одного и того же антитела и в одном варианте осуществления идентичны по последовательностям CDR, последовательностям переменного домена VH и VL и/или последовательностям константного домена СН1 и CL. В одном варианте осуществления аминокислотные последовательности первого и второго Fab-фрагмента антитела, специфически связывающегося с ВСМА, идентичны. В одном варианте осуществления антитело к ВСМА представляет собой антитело, содержащее последовательности CDR антитела 21, 22 или 42, антитело, содержащее последовательности VH и VL антитела 21, 22 или 42, или антитело, содержащее VH, VL, СН1, и последовательности CL антитела 21, 22 или 42.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело характеризуется тем, что содержит:

а) первую легкую цепь и первую тяжелую цепь первого антитела, которое специфически связывается с ВСМА; и

б) вторую легкую цепь и вторую тяжелую цепь второго антитела, которые специфически связываются с CD3, при этом переменные домены VL и VH во второй легкой цепи и второй тяжелой цепи второго антитела заменены друг на друга; и при этом

с) в этом в константном домене CL второй легкой цепи согласно б) аминокислота в положении 124 независимо замещена лизином (K), аргинином (R) или гистидином (H) (нумерация по Kabat), и при этом в константе домен СН1 второй тяжелой цепи под б) аминокислотой в положении 147 и аминокислотой в положении 213 независимо замещены глутаминовой кислотой (Е) или аспарагиновой кислотой (D) (нумерация по Kabat).

В одном варианте осуществления, помимо замены аминокислоты в положении 124 в константном домене CL первой или второй легкой цепи, аминокислота в положении 123 независимо замещена лизином (K), аргинином (R) или гистидином (H).

В одном варианте осуществления в константном домене CL аминокислота в положении 124 заменена лизином (K), в константном домене CH1 аминокислота в положении 147 и аминокислота в положении 213 заменены глутаминовой кислотой (E). В одном варианте осуществления помимо прочего, в константном домене CL аминокислота в положении 123 заменена аргинином (R).

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело состоит из двух ВСМА-Fab и части Fc, где один ВСМА-Fab и CD3 Fab связаны через свои C-концы с шарнирной областью указанной части Fc, а второй ВСМА-Fab связан с его C-концом к N-концу CD3-Fab. CD3-Fab содержит кроссовер, и либо CD3-Fab, либо оба ВСМА-Fab содержат аминокислотную замену (фиг. 2A и 2B).

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело характеризуется тем, что каждый домен CH3 одной тяжелой цепи и домен CH3 другой тяжелой цепи встречаются на границе взаимодействия, которая включает исходную границу взаимодействия между доменами CH3 антитела; причем указанная граница взаимодействия изменена, чтобы способствовать образованию биспецифического антитела, причем изменение характеризуется тем, что

изменяется домен CH3 одной тяжелой цепи, так что внутри исходной границы взаимодействия домена CH3 одной тяжелой цепи, который встречается с исходной границей взаимодействия домена CH3 другой тяжелой цепи в биспецифическом антителе, аминокислотный остаток заменяется на аминокислотный остаток, имеющий больший объем боковой цепи, тем самым создавая выпуклость на границе взаимодействия домена CH3 одной тяжелой цепи, которая может располагаться в полости на границе взаимодействия домена CH3 другой тяжелой цепи и

домен CH3 другой тяжелой цепи изменяется, так что внутри исходной границы взаимодействия второго домена CH3, который встречается с исходной границей взаимодействия первого домена CH3 внутри биспецифического антитела, аминокислотный остаток заменяется на аминокислотный остаток, имеющий меньшую объем боковой цепи, тем самым создавая полость на границе взаимодействия второго домена CH3, внутри которой можно расположить выступ на границе взаимодействия первого домена CH3.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело характеризуется тем, что указанный аминокислотный остаток, имеющий больший объем боковой цепи, выбран из группы, состоящей из аргинина (R), фенилаланина (F), тирозина (Y), триптофана (W).

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело характеризуется тем, что указанный аминокислотный остаток, имеющий меньший объем боковой цепи, выбран из группы, состоящей из аланина (A), серина (S), треонина (T), валина (V).

В одном варианте осуществления такое биспецифическое антитело характеризуется тем, что оба домена CH3 дополнительно изменяются путем введения цистеина (C) в качестве аминокислоты в соответствующие положения каждого домена CH3.

В одном варианте осуществления такое биспецифическое антитело характеризуется тем, что один из константных доменов тяжелой цепи CH3 обеих тяжелых цепей заменен константным доменом тяжелой цепи CH1; а другой константный домен тяжелой цепи CH3 заменен константным доменом легкой цепи CL.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит модифицированную часть Fc, вызывающую гибель 20% или более клеток препарата экспрессирующих ВСМА клеток через 24 ч при концентрации указанного антитела 100 нМ с помощью АЗКЦ относительно контроля в идентичных условиях с использованием такого же антитела с родительской частью Fc в качестве контроля. Такое антитело в одном варианте осуществления представляет собой чистое антитело.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело представляет собой антитело с количеством фукозы 60% или менее от общего количества олигосахаридов (сахаров) в Asn297 (см., например, US 20120315268)

В одном варианте осуществления часть Fc содержит аминокислотные замены, которые введены в часть Fc человека и раскрыты в SEQ ID NO: 55 и 56.

В одном варианте осуществления антитело к ВСМА представляет собой Mab21, Mab22, Mab42, Mab27, Mab33 и Mab39 (для антител Mab 21, 22, 42, 27, 33, 39 см. табл. 1A и B далее в тексте), как описано в данном документе их последовательности CDR и/или последовательности VH/VL вместе с описанными последовательностями CL и CH1. В одном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит или не содержит Fc-часть, особенно формат 2+1, и тяжелую и легкую цепи биспецифического антитела, в частности, такие, как описано в табл. 1A.

Антитело к ВСМА в биспецифическом формате, особенно в формате 2+1, приводит к истощению количества клеток злокачественных плазматических клеток в аспирате костного мозга ММ до по меньшей мере 80% после 48-часовой обработки в концентрации от 10 нМ до 1 фМ включительно. Антитела к ВСМА были охарактеризованы при пэннинге библиотеки фагового дисплея вариативной тяжелой цепи (VH) и вариативной легкой цепи (VL) антитела 83 A10 (библиотека VH, библиотека VL) с 1-50 нМ

BCMA макака в 1-3 раунда и выбора вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи, которые обладают такими свойствами, как связывание биспецифических Т-клеток. Предпочтительно пэннинг выполняется в 3 раунда, используя 50 нМ BCMA макака для раунда 1, 25 нМ BCMA макака для раунда 2 и 10 нМ BCMA макака для раунда 3. Предпочтительно библиотеки рандомизированы либо в CDR1 легкой цепи и CDR2, либо в CDR1 и CDR2 тяжелой цепи. Предпочтительно идентифицированы легкая и тяжелая цепи, каждый из которых связывается как Fab-фрагмент, содержащий, кроме прочего, соответствующие VH или VL антитела 83A10, с BCMA человека с Kd от 50 пМ до 5 нМ и с BCMA макака с Kd от 0,1 до 20 нМ. Предпочтительно биспецифический формат представляет собой формат, показанный на фиг. 2А, содержащий соответствующие константные домены VL и VH замены Fab CD3 друг на друга и в пределах обоих Fab BCMA, аминокислотных замен K213E и K147E в домене CH1 и аминокислотных замен E123R и Q124K в домен CL.

Биспецифическое антитело, упомянутое в данном документе, может быть получено стадиями трансформации клетки-хозяина векторами, содержащими молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь указанной молекулы антитела, культивированием клетки-хозяина в условиях, которые обеспечивают синтез указанной молекулы антитела; и выделение указанной молекулы антитела из указанной культуры.

Биспецифическое антитело, упомянутое в данном документе, может быть получено стадиями трансформации клетки-хозяина векторами, содержащими молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь антитела, специфически связывающиеся с первыми векторами-мишенями, содержащими молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь антитела, специфически связывающиеся со второй мишенью, где вариабельные домены VL и VH или константные домены CL и CH1 заменены друг на друга; культивирование клетки-хозяина в условиях, обеспечивающих синтез указанной молекулы антитела; и выделение указанной молекулы антитела из указанной культуры.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело специфически связывается с внеклеточным доменом BCMA человека и с CD3ε человека, характеризуясь тем, что содержит набор тяжелой и легкой цепей, выбранных из группы, состоящей из полипептидов:

- i) SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50 и SEQ ID NO: 51 (2x) (набор 1 TCB антитела 21),
- ii) SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 и SEQ ID NO: 54 (2x) (набор 2 TCB антитела 22) и
- iii) SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56 и SEQ ID NO: 57 (2x) (набор 3 TCB антитела 42).

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело специфически связывается с внеклеточным доменом BCMA человека и с CD3ε человека, характеризуясь тем, что содержит набор тяжелой и легкой цепей, выбранных из группы, состоящей из полипептидов SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50 и SEQ ID NO: 51(2x) (набор 1 TCB антитела 21).

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело специфически связывается с внеклеточным доменом BCMA человека и с CD3ε человека, характеризуясь тем, что содержит набор тяжелой и легкой цепей, выбранных из группы, состоящей из полипептидов SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 и SEQ ID NO: 54 (2x) (набор 2 TCB антитела 22).

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело специфически связывается с внеклеточным доменом BCMA человека и с CD3ε человека, характеризуясь тем, что содержит набор тяжелой и легкой цепей, выбранных из группы, состоящей из полипептидов SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56 и SEQ ID NO: 57(2x) (набор 3 TCB антитела 42).

Таблица 1А. Последовательности антител

SEQ ID NO:	Название(я)	Аминокислотные последовательности
1	CDR1H CD3	TYAMN
2	CDR2H CD3	RIRSKYNNYATYYADSVKG
3	CDR3H CD3	HGNFGNSYVSWFAY
4	CDR1L CD3	GSSTGAVTTSNYAN
5	CDR2L CD3	GTNKRAP
6	CDR3L CD3	ALWYSNLWV
7	VH CD3	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGLVTVSS
8	VL CD3	QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYAN WVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGG KAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTK LTVL
9	VH 83A10	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSAISGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFD YWGQGLVTVSS
10	VH Mab21 VH Mab22 VH Mab42	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMG WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDY WGQGLVTVSS
11	VL 83A10	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSDFTL TISRLEPEDFAVYYCQYGYPPDFTFGQGTKVEIK
12	VL Mab21 VL Mab27 VL Mab33 VL Mab39	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSEYYLAW YQQKPGQAPRLIEHASTRATGIPDRFSGSGSDFTL LTISRLEPEDFAVYYCQYGYPPDFTFGQGTKVEIK
13	VL Mab22	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPRLIISGASRATGIPDRFSGSGSDFTL TISRLEPEDFAVYYCQYGYPPDFTFGQGTKVEIK
14	VL Mab42	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSDEYLSWY QQKPGQAPRLIHSASTRATGIPDRFSGSGSDFTL AISRLEPEDFAVYYCQYGYPPDFTFGQGTKVEIK
15	CDR1H 83A10	SYAMS
16	CDR2H 83A10	AISGGSTYYADSVKG

17	CDR3H 83A10 CDR3H Mab21 CDR3H Mab22 CDR3H Mab42 CDR3H Mab27 CDR3H Mab33 CDR3H Mab39	VLGWFDY
18	CDR1L 83A10	RASQSVSSSYLAW
19	CDR2L 83A10	YGASSRAT
20	CDR3L 83A10 CDR3L Mab21 CDR3L Mab22 CDR3L Mab42	QQYGYPPDFT
21	CDR1H Mab21 CDR1H Mab22 CDR1H Mab42	DNAMG
22	CDR2H Mab21 CDR2H Mab22 CDR2H Mab42	AISGPGSSTYYADSVKG
23	CDR1L Mab21	RASQSVSEYYLAW
24	CDR2L Mab21	EHASTRAT
25	CDR1L Mab22	RASQSVSSYYLAW

043592

26	CDR2L Mab22	SGAGSRAT
27	CDR1L Mab42	RASQSVSDEYLSW
28	CDR2L Mab42	HSASTRAT
29	CDR1H Mab27	SAPMG
30	CDR2H Mab27	AISYIGHTYYADSVKG
31	CDR1L Mab27 CDR1L Mab33 CDR1L Mab39	RASQSVSEYYLA
32	CDR2L Mab27 CDR2L Mab33 CDR2L Mab39	HASTRAT
33	CDR3L Mab27 CDR3L Mab33 CDR3L Mab39	QQYGYPPDFT
34	CDR1H Mab33	TNAMG
35	CDR2H Mab33	AINRFGGSTYYADSVKG
36	CDR1H Mab39	QNAMG
37	CDR2H Mab39	AISPTGFSTYYADSVKG
38	VH Mab27	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSAPMG WVRQAPGKGLEWVS AISYIGHTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFEDY WGQGTLVTVSS

39	VH Mab33	EVQLES GGGLVQPGSLRLSCAASGFTFYTNAMG WVRQAPGKGLEWVSAINRFGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFD YWGQGLVTVSS
40	VH Mab39	EVQLES GGGLVQPGSLRLSCAASGFTFTQNAMG WVRQAPGKGLEWVS AISPTGFSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDY WGQGLVTVSS
41	CH1 83A10 κ BCMA CH1 Mab21 κ BCMA CH1 Mab22 κ BCMA CH1 Mab42 κ BCMA	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSC
42	CL 83A10 κ BCMA CL Mab21 κ BCMA CL Mab22 κ BCMA CL Mab42 κ BCMA	RTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
43	CH1 CD3	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSC
44	CL CD3	ASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
45	HC выступа 83A10	EVQLES GGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVS AISGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFD YWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KVEPKSCDGGGGSGGGGSAVVVTEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGG TNKRAPGTPARFSGLLGGKAALTLGAQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGGKTLTVLSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIKAKGQ PREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

46	HC 83A10 впадины	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSAISGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFD YWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDE KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPS RDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
47	LC 83A10	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GDTFTL TISRLEPEDFAVYYCQQYGYPPDFTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTL TLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
48	LC CD3	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGLVTVSSASVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
49	HC Mab21 выступа	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMG WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDY WGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEK VEPKSCDGGGSGGGGSAVVTQEPSLTVSPGGTV TLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGT NKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

50	HC Mab21 впадины	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DNAMG WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAKVLGWFYD WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEK VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
51	LC Mab21	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSEYYLAW YQQKPGQAPRLIEHA STRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQYGYPPDFTFGGQTKVEIK RTVAAPS VFI PPSDRKLSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTL TLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
52	HC Mab22 выступа	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DNAMG WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAKVLGWFYD WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEK VEPKSCDGGGSGGGGSAVVTQEP SLTVSPGGTV TLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGT NKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

53	HC Mab22 впадины	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMG WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFYD WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEK VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKLSLSPGK
54	LC Mab22	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYYLAWY QQKPGQAPRLISGAGSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQYGYPPDFTFGQGTKVEIKR TVAAPSVMFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNFPYREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTL TLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	HC Mab42 выступа	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMG WVRQAPGKGLEWVSAISGPGSSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFYD WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEK VEPKSCDGGGGGGGSAVVTQEPSTLTVSPGGTV TLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGT NKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGGKTLTVLSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

56	HC Mab42	впадины	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMG WVRQAPGKLEWVSAISGPSSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFYD WGQGTLLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAL GCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEK VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTIKAKGQPREPQVCTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
57	LC Mab42		EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSDEYLSWY QKPGQAPRLIHSASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTL AISRLPEDFAVYYCQYGYPPDFTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTL TLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

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

Таблица 1B. Последовательности антител (краткий список)

Антитело к CD3	SEQ ID NO:							
	VH	VL	CDR1H	CDR2H	CDR3H	CDR1L	CDR2L	CDR3L
	7	8	1	2	3	4	5	6
BCMA антитело	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 2A. Дополнительные конструкции

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

Таблица 2B. 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 hole LALA PG (впадина HC)	46	50	53	56
BCMAcv LC IgG1 человека (BCMA LC)	47	51	54	57
CD3 VH_CL (CD3 LC)	48	48	48	48

Для создания следующих (2+1) Fc-содержащих TCB к BCMA/CD3 использовали соответствующие конструкции/идентификаторы последовательностей, как указано в табл. 2B выше:

83A10-TCBcv: 45, 46, 47 (x2), 48 (фиг. 2A)

21-TCBcv: 48, 49, 50, 51 (x2) (фиг. 2A)

22-ТСВсv: 48, 52, 53, 54 (x2) (фиг. 2А)

42-ТСВсv: 48, 55, 56, 57 (x2) (фиг. 2А)

Г. Способы лечения и профилактики и соединения для применения в таких способах

Соединения 1, 2 и 3 и их энантиомеры, смеси энантиомеров, таутомеры, изотопологи или фармацевтически приемлемых соли, предложенные в данном документе, в комбинации с биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3) предложенные в данном документе, могут использоваться во всех способах лечения, как это предложено в данном документе.

В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту соединения 1 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенные в данном документе, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способе лечения множественной миеломы, при этом соединение представляет собой соединение 1 или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль, где способ включает введение пациенту соединения 1 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенные в данном документе, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту соединения 2, его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенные в данном документе, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способе лечения множественной миеломы, при этом соединение представляет собой Соединение 2, или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль, причем способ включает введение пациенту Соединения 2, его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенные в данном документе, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту соединения 3 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенные в данном документе, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способе лечения множественной миеломы, при этом соединение представляет собой соединение 3 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль, где способ включает введение пациенту соединения 3 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенные в данном документе, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ предотвращения множественной миеломы, который включает введение пациенту соединения, представленного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, содержащего первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, необязательно при этом биспецифическое антитело характеризуется тем, что указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способе предотвращения множественной миеломы, при этом соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, причем способ включает введение пациенту соединения, предложенного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, содержащего первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, при этом биспецифическое антитело необязательно характеризуется тем, что указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложен способ лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту соединения, предложенного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, содержащего первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, при этом биспецифическое антитело необязательно характеризуется тем, что указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способе лечения множественной миеломы, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способ включает введение пациенту соединения, предложенного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, содержащего первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, при этом биспецифическое антитело необязательно характеризуется тем, что указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления изобретения в данном документе также предложены способы индукции терапевтического ответа, оцениваемого по Международными едиными критериями ответа при множественной миеломе (IURC) (см. Durie BGM, Harousseau J-L, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006; (10) 10: 1-7) у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления в данном документе также предложены способы индукции терапевтического ответа, оцененного с помощью критериев консенсуса Международной рабочей группы по миеломе (IMWG) для ответа и оценки минимального остаточного заболевания (Rajkumar et al., *Blood*, 2011, 117(18):4691-5; Kumar et al., *Lancet Oncol*, 2016, 17(8):e328-e346) у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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, выбран-

ную из группы:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способы индуцирования терапевтического ответа, оцениваемого по Международными едиными критериями ответа при множественной миеломе (IURC) (см. Durie BGM, Harousseau J-L, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006; (10) 10: 1-7) у пациента, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способы включают введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способах индукции терапевтического ответа, оцененного с помощью критериев консенсуса Международной рабочей группы по миеломе (IMWG) для ответа и оценки минимального остаточного заболевания (Rajkumar et al, *Blood*, 2011, 117(18):4691-5; Kumar et al, *Lancet Oncol*, 2016,17(8):e328-e346) у пациента, при этом соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или их фармацевтически приемлемую соль, при этом способы включают введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения строгого полного ответа, полного ответа или очень хорошего частичного ответа, как определено Международными унифицированными критериями ответа для множественной миеломы (IURC) у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения устойчивой МОБ-отрицательности, МОБ-отрицательности на основе проточной цитометрии, МОБ-отрицательности на основе секвенирования, МОБ-отрицательности на основе визуализации плюс, строгого полного ответа, полного ответа или очень хорошего частичного ответа, определенных с помощью критериев консенсуса Международной рабочей группы по миеломе (IMWG) для оценки ответа и минимальной остаточной болезни у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способах достижения строгого полного ответа, полного ответа или очень хорошего частичного ответа, определенных Международными унифицированными критериями ответа для множественной миеломы (IURC) у пациента, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способы включают введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способах достижения устойчивой МОБ-отрицательности, МОБ-отрицательности на основе проточной цитометрии, МОБ-отрицательности на основе секвенирования, МОБ-отрицательности на основе визуализации плюс, строгого полного ответа, полного ответа или очень хорошего частичного ответа, определенных с помощью критериев консенсуса Международной рабочей группы по миеломе (IMWG) для оценки ответа и минимальной остаточной болезни у пациента, при этом соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или их фармацевтически приемлемую соль, при этом способы включают введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, выживаемости без событий, времени до прогрессирования или выживаемости без заболевания у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способах достижения увеличения общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, бессобытийной выживаемости, времени до прогрессирования или выживаемости без заболевания у пациента, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способы включают введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения общей выживаемости у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способах достижения увеличения общей выживаемости у пациента, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способы включают введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть,

специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения выживаемости без прогрессирования у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способах достижения увеличения выживаемости без прогрессирования у пациента, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способы включают введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения выживаемости без событий у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способах достижения увеличения выживаемости без событий у пациента, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способы включают введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси

энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения времени до прогрессирования у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способах достижения увеличения времени до прогрессирования у пациента, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способы включают введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложены способы достижения увеличения выживаемости без заболевания у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления в данном документе предложено соединение для применения в

способах достижения увеличения выживаемости без заболеваний у пациента, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способы включают введение эффективного количества соединения, описанного в данном документе, например соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В данном документе также предложены способы лечения пациентов, ранее проходивших лечение множественной миеломы, но не отвечающих на стандартные терапевтические средства, а также пациентов, ранее не подверженных лечению. Также включены способы лечения пациентов, прошедших хирургическую операцию, предпринятую для лечения множественной миеломы, а также пациентов, не подвергавшихся операции. В данном документе также предложены способы лечения пациентов, ранее проходивших пересадку органов, а также пациентов, ранее не подвергавшихся такому лечению. В данном документе также предложено соединение для применения в способах лечения пациентов, ранее проходивших лечение множественной миеломы, но не отвечающих на стандартные терапевтические средства, а также пациентов, ранее не подверженных лечению. Также включено соединение для применения в способах лечения пациентов, прошедших хирургическую операцию, предпринятую для лечения множественной миеломы, а также пациентов, не подвергавшихся операции. В данном документе также предложено соединение для применения в способах лечения пациентов, ранее проходивших пересадку органов, а также пациентов, ранее не подвергавшихся такому лечению.

Предлагаемые в данном описании способы включают лечение множественной миеломы, которая является рецидивирующей, рефрактерной или устойчивой. Предлагаемые в данном описании способы включают предупреждение множественной миеломы, которая является рецидивирующей, рефрактерной или устойчивой. Предлагаемые в данном описании способы включают сдерживание множественной миеломы, которая является рецидивирующей, рефрактерной или устойчивой. В некоторых таких вариантах осуществления миелома является однократно, двукратно, трехкратно, четырехкратно или пятикратно рецидивирующей множественной миеломой. Способы, предложенные в данном документе, включают лечение множественной миеломы, которая представляет собой впервые диагностированную множественную миелому (включая впервые диагностированную множественную миелому с низким, средним и высоким риском). Способы, предложенные в данном документе, включают предотвращение множественной миеломы, которая представляет собой впервые диагностированную множественную миелому (включая впервые диагностированную множественную миелому с низким, средним и высоким риском). Способы, предложенные в данном документе, включают мероприятия по борьбе с множественной миеломой, которая представляет собой впервые диагностированную множественную миелому (включая впервые диагностированную множественную миелому низкого риска, среднего риска и высокого риска). В одном варианте осуществления способы, предложенные в данном документе, уменьшают, поддерживают или устраняют минимальную остаточную болезнь (МОБ). В одном варианте осуществления способы, предложенные в данном документе, охватывают лечение, предупреждение или сдерживание различных типов множественной миеломы, таких как моноклональная гаммапатия неясного генеза (МГНГ); множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска; множественная миелома с возможностью трансплантации и без возможности трансплантации; вялотекущая (медленно прогрессирующая) множественная миелома (в том числе вялотекущая множественная миелома низкого риска, среднего риска и высокого риска); активная множественная миелома; одиночная плазмоцитома; экстрамедуллярная плазмоцитома; лейкоз плазматических клеток; множественная миелома центральной нервной системы; легкопочечная миелома; несекреторная миелома; миелома иммуноглобулина D; и миелома иммуноглобулина E, путем введения терапевтически эффективного количества соединения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления множественная миелома представляет собой лейкоз плазматических клеток. В другом варианте осуществления способы, предложенные в данном документе, охватывают лечение, предупреждение или сдерживание множественной миеломы, характеризующейся генетическими аномалиями, такими как транслокация циклина D (например, t(11;14)(q13;q32); t(6;14)(p21;32); t(12;14)(p13;q32); или t(6;20);); транслокации MMSET (например,

t(4;14)(p16;q32)); транслокации MAF (например, t(14;16)(q32;q32); t(20;22); t(16; 22)(q11;q13); или t(14;20)(q32;q11)); или другие факторы хромосом (например, делеция 17p13, или хромосомы 13; del(17/17p), негиперплоидия и gain(1q)), путем введения терапевтически эффективного количества соединения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления способы включают введение терапевтически эффективного количества Соединения 1 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенные в данном документе, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления способы включают введение терапевтически эффективного количества соединения 2, его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенные в данном документе, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В другом варианте осуществления способы включают введение терапевтически эффективного количества Соединения 3, его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенные в данном документе, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления множественная миелома высокого риска представляет собой множественную миелому, которая рецидивировала в течение 12 месяцев после первого курса лечения. В еще одном варианте осуществления множественная миелома высокого риска представляет собой множественную миелому, которая характеризуется генетическими аномалиями, например одно или более из del(17/17p) и t(14;16)(q32;q32).

В некоторых таких вариантах осуществления множественная миелома является впервые диагностированной множественной миеломой с возможностью трансплантации. В другом варианте осуществления множественная миелома является впервые диагностированной множественной миеломой без возможности трансплантации. В еще одних вариантах осуществления множественная миелома характеризуется ранним прогрессированием (например, менее 12 месяцев) после первоначального лечения. В еще одних вариантах осуществления множественная миелома характеризуется ранним прогрессированием (например, менее 12 месяцев) после пересадки аутологичных стволовых клеток. В другом вариантах осуществления множественная миелома является рефрактерной или устойчивой к леналидомиду. В другом варианте осуществления множественная миелома является рефрактерной к леналидомиду. В другом варианте осуществления множественная миелома является устойчивой к леналидомиду. В другом вариантах осуществления множественная миелома является рефрактерной или устойчивой к помалидомиду. В другом варианте осуществления множественная миелома является рефрактерной к помалидомиду. В другом варианте осуществления множественная миелома является устойчивой к помалидомиду. В некоторых таких вариантах осуществления спрогнозировано, что множественная миелома является рефрактерной к

помалидомиду (например, молекулярной характеристикой). В другом варианте осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к 3 или более лечениям и подвергалась экспозиции ингибитора протеасом (например, бортезомиба, карфилзомиба, иксазомиба, опрозомиба или маризомиба) и иммуномодулирующего соединения (например, талидомида, леналидомида, помалидомида CC122 или CC220), или двойной рефрактерной к ингибитору протеасом и иммуномодулирующему соединению. В последующих других вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к 3 или более лечениям, включающим, например, CD38 моноклональным антителом (CD38 mAb, например, даратумумабом или изатуксимабом), ингибитором протеасом (например, бортезомибом, карфилзомибом, иксазомибом или маризомибом) и иммуномодулирующим соединением (например, талидомидом, леналидомидом, помалидомидом CC122 или CC220), или двойной рефрактерной к ингибитору протеасом или иммуномодулирующему соединению и CD38 mAb. В последующих других вариантах осуществления множественная миелома является тройной рефрактерной, например, множественная миелома является рефрактерной к ингибитору протеасом (например, бортезомибу, карфилзомибу, иксазомибу, опрозомибу или маризомибу) и иммуномодулирующему соединению (например, талидомиду, леналидомиду, помалидомиду CC122 или CC220) и одному другому активному агенту, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены способы лечения, профилактики и/или сдерживания множественной миеломы, включая рецидивирующую/рефрактерную множественную миелому у пациентов с нарушением функции почек, или ее симптомов, включающие введение терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой с нарушением функции почек, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способах лечения, профилактики и/или сдерживания множественной миеломы, включая рецидивирующую/рефрактерную множественную миелому у пациентов с нарушением функции почек, или ее симптомов, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способы включают введение терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, пациенту, страдающему рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой с нарушением функции почек, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены способы лечения, профилактики и/или сдерживания множественной миеломы, включая рецидивирующую или рефрактерную множественную миелому у ослабленных пациентов, или ее симптомов, включающие введение терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, ослабленному пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую

часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено соединение для применения в способах лечения, профилактики и/или сдерживания множественной миеломы, включая рецидивирующую или рефрактерную множественную миелому у ослабленных пациентов, или ее симптомов, причем соединение представляет собой соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль, при этом способы включают введение терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, ослабленному пациенту, страдающему множественной миеломой, необязательно, при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В некоторых таких вариантах осуществления ослабленный пациент характеризуется невозможностью индукционной терапии или непереносимостью лечения дексаметазоном. В некоторых таких вариантах осуществления ослабленный пациент находится в преклонном возрасте, например, в возрасте старше 65 лет.

В некоторых вариантах осуществления пациент, подлежащий лечению одним из способов, предложенных в данном документе, не проходил терапию против множественной миеломы до введения соединения 1, соединения 2 или соединения 3, предложенного в данном документе, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления пациент, подлежащий лечению одним из способов, предложенных в данном документе, проходил терапию против множественной миеломы до введения соединения 1, соединения 2 или соединения 3, предложенного в данном документе, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления у пациента, подлежащего лечению одним из способов, предложенных в данном документе, развилась лекарственная устойчивость к терапии против множественной миеломы. В некоторых таких вариантах осуществления у пациента развилась резистентность к одному, двум, трем, четырем, пяти или более терапевтическим средствам против множественной миеломы. В одном варианте осуществления терапевтические средства выбраны из моноклонального антитела к CD38 (mAb к CD38, например, даратумумаба или изатуксимаба), ингибитора протеасом (например, бортезомиба, карфилзомиба, иксазомиба или маризомиба) и иммуномодулирующего соединения (например, талидомида, леналидомида, помалидомида, CC122 или CC220). В одном варианте осуществления терапевтические средства включают одно или более из моноклонального антитела к CD38 (mAb к CD38, например, даратумумаба или изатуксимаба), ингибитора протеасом (например, бортезомиба, карфилзомиба, иксазомиба или маризомиба) и иммуномодулирующее соединение (для например, талидомида, леналидомида, помалидомида, CC122 или CC220). В одном варианте осуществления терапевтические средства включают один или более алкилирующих агентов (например, мелфалан, циклофосфамид, бендамустин), ингибиторов гистондеацетилазы (например, панобиностат), других моноклональных антител (например, антитело к SLAMF7, например элтозумаб), глюкокортикоидов (например, дексаметазона, преднизона), других терапевтических средств против множественной миеломы (например, цисплатина, этопозида, доксорубицина) и клеточных терапевтических средств (например, CAR-T).

Способы, предложенные в данном документе, включают лечение пациента, независимо от возраста пациента. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой 18-летнего субъекта или

чальная доза может составлять 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 или 0,5 мг в сутки. Дозу можно повышать до 1, 2, 3, 4 или 5 мг в сутки.

В конкретных вариантах осуществления терапевтически или профилактически эффективное количество составляет от около 0,001 до около 5 мг/кг/сутки, от около 0,001 до около 4 мг/кг/сутки, от около 0,001 до около 3 мг/кг/сутки, от около 0,001 до около 2 мг/кг/сутки, от около 0,001 до около 1 мг/кг/сутки, 0,001 до около 0,05 мг/кг/сутки, от около 0,001 до около 0,04 мг/кг/сутки, от около 0,001 до около 0,03 мг/кг/сутки, от около 0,001 до около 0,02 мг/кг/сутки, от около 0,001 до около 0,01 мг/кг/сутки или от около 0,001 до около 0,005 мг/кг/сутки.

Вводимая доза также может быть выражена в других единицах, отличных от мг/кг/сутки. Например, дозы для парентерального введения могут быть выражены в мг/м²/день. Специалист в данной области техники легко определит, как преобразовать дозы из мг/кг/сутки в мг/м²/сутки с учетом высоты или массы субъекта или их обоих (см. www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm). Например, доза 1 мг/кг/сутки для человека массой 65 кг приблизительно равна 38 мг/м²/сутки.

В зависимости от состояния заболевания, подлежащего лечению, и от состояния субъекта, соединение 1, соединение 2 или соединение 3, предлагаемого в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль можно вводить пероральным, парентеральным способом (например, внутримышечным, интраперитонеальным, внутривенным, CIV, интрацистеральной инъекцией или инфузией, подкожной инъекцией или с применением имплантата), посредством ингаляции, назальным, вагинальным, ректальным, сублингвальным или местным (например, трансдермальным или локальным) способом введения. Соединение 1, соединение 2 или соединение 3, предложенное в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль могут быть составлены, отдельно или совместно, в подходящую единичную лекарственную форму с фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, носителями, адъювантами и жидкими средами, подходящими для каждого способа введения.

В одном варианте осуществления соединение 1, соединение 2 или соединение 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят перорально. В другом варианте осуществления соединение 1, соединение 2 или соединение 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят парентерально. В еще одном варианте осуществления соединение 1, соединение 2 или соединение 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят внутривенно.

Соединение 1, соединение 2 или соединение 3, предлагаемое в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль можно доставлять в виде разовой дозы, такой как, например, однократная болюсная инъекция или пероральные таблетки или пилюли; или в течение определенного времени, например, посредством непрерывной инфузии в течение определенного времени или в виде дробных болюсных доз в течение определенного времени. Соединения, описанные в данном документе, при необходимости можно вводить несколько раз, например, до стабилизации или регрессии заболевания у пациента или до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности у пациента. Стабильное заболевание или его отсутствие определяют способами, известными в данной области техники, такими как оценка симптомов пациента, медицинский осмотр, лабораторные исследования, визуализация опухоли, снимок которой получен с помощью рентгеновского излучения, КТ, ПЭТ или МРТ, а также с помощью других общепринятых способов оценки.

В одном варианте осуществления способов, предложенных в данном документе, соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят до биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе. В одном варианте осуществления способов, предложенных в данном документе, соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль одновременно с биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе. В одном варианте осуществления способов, предложенных в данном документе, соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят после биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе.

Соединение 1, соединение 2 или соединение 3, предложенное в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль может независимо вводиться один раз в сутки (QD) или может быть разделено на несколько дневных доз, таких как для приема два раза в сутки (BID), три раза в сутки (TID) и четыре раза в сутки (QID). Кроме того, введе-

ние может быть непрерывным (т.е., ежедневно в течение нескольких дней или каждый день), периодическим, например, в циклах (т.е., в том числе дни, недели или месяцы отдыха без лекарственного средства). Как используется в данном документе, термин "ежедневно" означает, что терапевтическое соединение, такое как соединение 1, соединение 2 или соединение 3, предлагаемые в данном описании, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят один или более раз в сутки, например, в течение периода времени. Термин "непрерывный" означает, что терапевтическое соединение, такое как соединение 1, соединение 2 или соединение 3, предлагаемые в данном описании, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят ежедневно в течение непрерывного периода, по меньшей мере, от 7 дней до 52 недель. Термин "периодический" или "периодически", применяемый в данном документе, означает прекращение и начало с регулярными или нерегулярными интервалами. Например, периодическое введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3, предлагаемого в данном документе, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли представляет собой введение в течение от одного до шести дней в неделю, введение в циклах (например, ежедневное введение в течение от двух до восьми последовательных недель, после чего идет период отдыха без введения в течение до одной недели) или введение через сутки. Используемый в данном документе, термин "циклический" означает, что терапевтическое соединение, такое как Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят ежесуточно или непрерывно, но с периодом отдыха. В некоторых подобных вариантах осуществления введение осуществляют один раз в сутки в течение от двух до шести суток, с последующим периодом отдыха без введения в течение от пяти до семи суток.

В некоторых вариантах осуществления, частота введения находится в пределах от около дозы ежедневно до дозы ежемесячно. В конкретных вариантах осуществления введение осуществляют раз в сутки, два раза в сутки, три раза в сутки, четыре раза в сутки, один раз в сутки, два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели. В одном варианте осуществления соединения 1, соединения 2 или соединения 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки. В другом варианте осуществления соединения 1, соединения 2 или соединения 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят два раза в сутки. В еще одном варианте осуществления соединения 1, соединения 2 или соединения 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят три раза в сутки. В еще одном варианте осуществления соединения 1, соединения 2 или соединения 3, предложенные в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят четыре раза в сутки.

В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество соединения 1, соединения 2 или соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 20 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество соединения 1, соединения 2 или соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 15 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество соединения 1, соединения 2 или соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 10 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество соединения 1,

соединения 2 или соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 7 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество соединения 1, соединения 2 или соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 5 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество соединения 1, соединения 2 или соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 4 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество соединения 1, соединения 2 или соединения 3 вводят в цикле лечения, который включает период введения, составляющий не более 3 дней, с последующим периодом отдыха.

В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 14 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 10 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 7 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 5 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 4 дней, с последующим периодом отдыха. В одном варианте осуществления цикл лечения включает период введения, составляющий не более 3 дней, с последующим периодом отдыха.

терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3 в дни 1-5 и 8-12 21-дневного цикла. В другом варианте осуществления цикл лечения включает введение терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3 в дни 1-5 и 11-15 21-дневного цикла. В другом варианте осуществления цикл лечения включает введение терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3 в дни 1-5 и 8-12 и 15-19 21-дневного цикла. В другом варианте осуществления цикл лечения включает введение терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3 в дни 1-4 и 8-11 и 15-18 21-дневного цикла. В другом варианте осуществления цикл лечения включает введение терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3 в дни 1-4 и 8-10 и 15-17 21-дневного цикла. В другом варианте осуществления цикл лечения включает введение терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3 в дни 1-3 и 8-11 21-дневного цикла. В другом варианте осуществления цикл лечения включает введение терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3 в дни 1-3 и 11-13 21-дневного цикла.

Любой цикл лечения, описанный в данном документе, может повторяться с числом циклов по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше. В некоторых случаях цикл лечения, описанный в данном документе, включает от 1 до около 24 циклов, от около 2 до около 16 циклов или от около 2 до около 4 циклов. В некоторых случаях цикл лечения, описанный в данном документе, включает от 1 до около 4 циклов. В некоторых вариантах осуществления все циклы 1-4 представляют собой 28-дневные циклы. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество соединения 1, соединения 2 или соединения 3 вводят в течение 1-13 циклов из 28 дней (например, в течение около 1 года). В некоторых случаях циклическая терапия не ограничена числом циклов, и при этом терапию продолжают до прогрессирования заболевания. Циклы в некоторых случаях могут предусматривать различную продолжительность периодов введения и/или периодов отдыха, описанных в данном документе.

В одном варианте осуществления цикл лечения включает введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 при величине дозировки, составляющей около 0,1 мг/сутки, 0,2 мг/сутки, 0,3 мг/сутки, 0,4 мг/сутки, 0,5 мг/сутки, 0,6 мг/сутки, 0,7 мг/сутки, 0,8 мг/сутки, 0,9 мг/сутки, 1,0 мг/сутки, 5,0 мг/сутки или 10 мг/сутки, при введении один раз в сутки. В одном варианте осуществления цикл лечения включает введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 при величине дозировки, составляющей около 0,1 мг/сутки, 0,2 мг/сутки, 0,3 мг/сутки, 0,4 мг/сутки, 0,5 мг/сутки, 0,6 мг/сутки, 0,7 мг/сутки или 0,8 мг/сутки, при введении один раз в сутки. В некоторых таких вариантах осуществления цикл лечения включает введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 раза в сутки при величине дозировки, составляющей около 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг или 0,5 мг, в дни 1-10 28-дневного цикла. В некоторых таких вариантах осуществления цикл лечения включает введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 раза в сутки при величине дозировки, составляющей около 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг или 0,5 мг, в дни 1-10 и 15-24 28-дневного цикла. В некоторых таких вариантах осуществления цикл лечения включает введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 раза в сутки при величине дозировки, составляющей около 0,1 мг в дни 1-10 и 15-24 28-дневного цикла. В других вариантах осуществления цикл лечения включает введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 дважды в сутки при величине дозировки, составляющей около 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг или 0,5 мг, в дни 1-3 28-дневного цикла. В других вариантах осуществления цикл лечения включает введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 дважды в сутки при величине дозировки, составляющей около 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг или 0,5 мг, в дни 1-3 и 15-19 28-дневного цикла. В других вариантах осуществления цикл лечения включает введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 дважды в сутки при величине дозировки, составляющей около 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг или 0,5 мг, в дни 1-3 и 15-17 28-дневного цикла. В других вариантах осуществления цикл лечения включает введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 дважды в сутки при величине дозировки, составляющей около 0,2 мг в дни 1-3 и 15-17 28-дневного цикла. В одном таком варианте осуществления соединение вводят в дни от 1 до 3 (утром и вечером), день 14 (только вечер), дни 15 и 16 (утром и вечером), и день 17 (только утром) в Цикле 1.

Н. Дозирование биспецифического антитела, специфически связывающегося с ВСМА и CD3

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело вводят один или два раза в неделю в одном варианте подкожным введением (например, в одном варианте в диапазоне доз от 0,1 до 2,5, в одном варианте до 25 мг/м²/неделя, в одном варианте до 250 мг/м²/неделя). Из-за превосходной цитотоксичности биспецифических антител их можно вводить, по меньшей мере, в том же диапазоне клинических доз (или даже ниже) по сравнению с обычными моноспецифическими антителами или обычными биспецифическими антителами, которые не являются биспецифическими к Т-клеткам (т.е. не связываются с CD3 на одном плече). Предполагается, что для биспецифических антител подкожное введение предпочтительнее в клинических условиях (например, в диапазоне доз 0,1-250 мг/м²/неделя). Кроме того, у пациентов с высокими уровнями APRIL и BAFF в сыворотке (например, у пациентов с множественной миеломой) может не потребоваться увеличение дозы биспецифического антитела, поскольку на него может не повлиять конкуренция лигандов. Напротив, у этих пациентов может потребоваться увеличение доз других лиганд-блокирующих/конкурирующих антител к ВСМА. Другим преимуществом биспецифического антитела является период полужизни от 4 до 12 суток, что позволяет вводить по меньшей мере

ре один или два раза в неделю.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело представляет собой антитело, обладающее свойствами, позволяющими проводить лечение один/два раза в неделю внутривенным путем, но в одном варианте осуществления посредством подкожного введения (например, дозировка в диапазоне 200-2000 мг/м²/неделя в течение 4 недель). Предполагается, что для биспецифических антител подкожное введение возможно и предпочтительно в клинических условиях (например, в диапазоне доз 200-2000 мг/м²/неделю, в зависимости от показаний заболевания). Кроме того, у пациентов с высокими уровнями APRIL и BAFF в сыворотке (например, у пациентов с множественной миеломой) может не потребоваться увеличение дозы биспецифического антитела (например не лиганд-блокирующее/конкурирующее антитело), поскольку на него может не повлиять конкуренция лигандов. Напротив, у этих пациентов может потребоваться увеличение доз других лиганд-блокирующих/конкурирующих антител к ВСМА, что делает подкожное введение технически более сложным (например, фармацевтически). Другое преимущество биспецифических антител основано на включении части Fc, которая связана с периодом полужизни от 4 до 12 суток и позволяет вводить по меньшей мере один или два раза в неделю.

I. Комбинированная терапия с дополнительным активным агентом

Лечение соединением 1, соединением 2 или соединением 3, предложенными в данном документе, или его энантиомером, смесью энантиомеров, таутомером, изотопологом или их фармацевтически приемлемой солью и биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (ВСМА) и с CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, также может быть объединено или использовано в сочетании с (например, до, во время или после) обычной терапией, включающей, но не ограничиваясь ими, хирургию, биологическую терапию (в том числе иммунотерапию, например, с помощью ингибиторов контрольной точки), лучевую терапию, химиотерапию, трансплантацию стволовых клеток, клеточную терапию или другую терапию не на основе препаратов используемую в настоящее время для лечения, предотвращения или сдерживания множественной миеломы. Комбинированное применение соединения, предложенного в данном документе, и обычной терапии может обеспечить уникальный режим лечения, который является неожиданно эффективным у некоторых пациентов. Не ограничиваясь теорией, считается, что лечение соединением 1, соединением 2 или соединением 3 и биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (ВСМА) и с CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, может обеспечивать аддитивные или синергетические эффекты при одновременном применении с традиционной терапией.

Как описано в данном документе, предусмотрен способ уменьшения, лечения и/или предупреждения неблагоприятных или нежелательных эффектов, связанных с традиционной терапией, включая, но не ограничиваясь этим, операцию, химиотерапию, лучевую терапию, биологическую терапию и иммунотерапию. Соединение, предложенное в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (ВСМА) и с CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, и дополнительный активный ингредиент можно вводить пациенту до, во время или после возникновения неблагоприятного эффекта, связанного с традиционной терапией.

Соединение 1, соединение 2 или соединение 3, предложенное в данном документе, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль и биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (ВСМА) и с CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, также могут быть объединены или использованы в сочетании с дополнительными терапевтическими агентами, полезными для лечения и/или профилактики множественной миеломы, описанными в данном документе.

В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ лечения множественной миеломы, включающий введение пациенту соединения 1 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (ВСМА) и CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, в комбинации с дополнительным активным агентом. В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ профилактики множественной миеломы, включающий введение пациенту Соединения 1 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (ВСМА) и CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, в комбинации с дополнительным активным агентом. В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ сдерживания множественной миеломы, включающий введение пациенту Соединения 1 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (ВСМА) и CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, в комбинации с дополнительным активным агентом. В одном варианте осуществления в данном доку-

менте предложен способ лечения множественной миеломы, включающий введение пациенту соединения 2 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, в комбинации с дополнительным активным агентом. В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ профилактики множественной миеломы, включающий введение пациенту соединения 2 его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, в комбинации с дополнительным активным агентом. В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ сдерживания множественной миеломы, включающий введение пациенту соединения 2 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, в комбинации с дополнительным активным агентом. В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ профилактики множественной миеломы, включающий введение пациенту соединения 3 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, в комбинации с дополнительным активным агентом. В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ сдерживания множественной миеломы, включающий введение пациенту соединения 3 его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, в комбинации с дополнительным активным агентом. В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ сдерживания множественной миеломы, включающий введение пациенту Соединения 3 или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, в комбинации с дополнительным активным агентом.

В одном варианте осуществления в данном документе предложен способ лечения, профилактики или сдерживания множественной миеломы, включающий введение пациенту соединения 1, соединения 2 или соединения 3 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенного в данном документе, в комбинации с одним или более дополнительными активными агентами и, необязательно, в комбинации с лучевой терапией, переливанием крови или хирургическим вмешательством.

В данном контексте термин "в комбинации" включает применение более чем одной терапии (например, одного или более профилактических и/или терапевтических агентов). Однако применение термина "в комбинации" не ограничивает порядок, в котором терапевтические средства (например, профилактические и/или терапевтические средства) вводят пациенту, страдающему заболеванием или расстройством. Первая терапия (например, профилактическое или терапевтическое средство, такое как соединение, предлагаемое в данном документе, например соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемая соль и биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенное в данном документе) может быть введена перед (например, за 5, 15, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ч, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель), одновременно с или после (например, спустя 5, 15, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ч, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель) введения дополнительной терапии (например, профилактического или терапевтического средства) субъекту. Четвертая терапия также рассматривается в данном документе, также как и пятикомпонентная терапия. В одном варианте осуществления третий терапевтический агент представляет собой дексаметазон.

Введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3) предложенного в данном документе, и один или более дополнительных активных агентов для пациента могут вводиться одновременно или последовательно одним и тем же или разными путями введения. Пригодность конкретного способа введения, применяемого для конкретного активного средства, зависит от самого активного средства (например, от возможности его перорального введения без разложения до попадания в кровотоки).

Путь введения соединения 1, соединения 2 или соединения 3 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенного в данном документе, не зависит от пути введения дополнительной терапии. В од-

ном варианте осуществления соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят перорально, и биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенное в данном документе, вводят внутривенным путем, но в одном варианте осуществления посредством подкожного введения. В другом варианте осуществления соединение 1, соединение 2 или соединение 3 вводят внутривенно, и биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенное в данном документе, вводят внутривенным путем, но в одном варианте осуществления посредством подкожного введения. Так, в соответствии с указанными вариантами осуществления соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят перорально или внутривенно, биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенное в данном документе, вводят внутривенным путем, но в одном варианте осуществления посредством подкожного введения, а дополнительную терапию можно вводить перорально, парентерально, интраперитонеально, внутривенно, внутриаартериально, трансдермально, сублингвально, внутримышечно, ректально, трансбуккально, интраназально, липосомально, посредством ингаляции, вагинально, интраокулярно, посредством местной доставки через катетер или стент, подкожно, интраадипозально, интраартикулярно, интратекально или в лекарственной форме с медленным высвобождением. В одном варианте осуществления Соединение 1, Соединение 2 или Соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и дополнительную терапию вводят одинаковым путем введения перорально или внутривенно, и биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3ε человека (CD3), предложенное в данном документе, вводят внутривенным путем, но в одном варианте осуществления посредством подкожного введения. В другом варианте осуществления соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль вводят одним способом введения, например, внутривенным введением, тогда как дополнительный агент (агент против множественной миеломы) вводят другим способом, например перорально, и биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), представленное в данном документе, вводят внутривенным путем, но в одном варианте осуществления через посредство подкожного введения.

В одном из вариантов осуществления дополнительный активный агент вводят внутривенно или подкожно и один или два раза в сутки в количестве от около 1 до около 1000 мг, от около 5 до около 500 мг, от около 10 до около 350 мг или от около 50 до около 200 мг. Конкретное количество дополнительного активного агента зависит от конкретного используемого агента, типа множественной миеломы, подлежащей лечению или сдерживанию развития, тяжести и стадии заболевания, а также от количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе, предложенных в данном документе, и любых необязательных дополнительных активных агентов, параллельно вводимых пациенту.

Один или более дополнительных активных ингредиентов или агентов можно использовать вместе с соединением 1, соединением 2 или соединением 3 и биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенным в данном документе в способах и композициях, предложенных в данном документе. Дополнительные активные средства могут представлять собой высокомолекулярные соединения (например, белки), малые молекулы (например, синтетические неорганические, металлоорганические или органические молекулы) или клеточные терапии (например, клетки CAR).

Примеры дополнительных активных агентов, которые могут быть использованы в способах и композициях, описанных в данном документе, включают один или более из списка, включающего мелфалан, винкристин, циклофосфамид, этопозид, доксорубин, бендамустин, ингибитор протеасом (например, бортезомиб, карфилзомиб, иксазомиб, опрозомиб или маризомиб), ингибитор гистондеацетилазы (например, панобиностат, ACY241), ингибитор BET (например, GSK525762A, OTX015, BMS-986158, TEN-010, CPI-0610, INCB54329, BAY1238097, FT-1101, C90010, ABBV-075, BI 894999, GS-5829, GSK1210151A (I-BET-151), CPI-203, RVX-208, XD46, MS436, PFI-1, RVX2135, ZEN3365, XD14, ARV-771, MZ-1, PLX5117, EP11313 и EP11336), ингибитор BCL2 (например, венетоклакс или навитоклакс), ингибитор MCL-1 (например, AZD5991, AMG176, MTK665, S64315 или S63845), кортикостероид (например, преднизон), дексаметазон; антитело (например, антитело CS1, такое как элотузумаб; антитело CD38, такое как даратумумаб, изатуксимаб; или антитело BCMA или конъюгат антитела, такой как GSK2857916 или BI 836909), ингибитор контрольной точки (как описано в данном документе) или клетки CAR (как описано в данном документе).

В одном варианте осуществления дополнительный активный агент, используемый вместе с соеди-

В некоторых вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1 и 8 21-дневного цикла. В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1, 4, 8 и 11 21-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1, 8 и 15 28-дневного цикла. В одном таком варианте осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1, 10, 15 и 22 Цикла 1. В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1, 4, 8, 11, 15 и 18 28-дневного цикла. В других таких вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1, 8, 15 и 22 28-дневного цикла. В других таких вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1, 3, 15 и 17 28-дневного цикла. В одном таком варианте осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1, 3, 14 и 17 Цикла 1. В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11 и 12 21-дневного цикла (в одном таком варианте осуществления циклы 1-8). В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1, 2, 8 и 9 21-дневного цикла (в одном варианте осуществления циклы ≥ 9). В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят при дозировке 40 мг в дни 1, 2, 8, 9, 15, 16, 22 и 23 28-дневного цикла.

В другом варианте осуществления дополнительный активный агент, используемый вместе с соединением 1, соединением 2 или соединением 3, или его энантиомером, смесью энантиомеров, таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью и биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3 ϵ человека (CD3), предложенным в данном документе, в способах и композициях, описанных в данном документе, представляет собой бортезомиб. В другом варианте осуществления дополнительный активный агент, используемый вместе с соединением 1, соединением 2 или соединением 3, или его энантиомером, смесью энантиомеров, таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью и биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3 ϵ человека (CD3), предложенным в данном документе, в способах и композициях, описанных в данном документе, представляет собой даратумумаб. В некоторых таких вариантах осуществления указанные способы дополнительно включают введение дексаметазона. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение соединения 1, соединения 2 или соединения 3 или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли и биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3 ϵ человека (CD3), представленного в данном документе, с ингибитором протеасом, как описано в данном документе, антителом к CD38, как описано в данном документе, и кортикостероидом, как описано в данном документе.

В определенных вариантах осуществления соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль, и биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3 ϵ человека (CD3), предложенное в данном документе, вводят одновременно с ингибиторами контрольных точек. В одном варианте осуществления один ингибитор контрольных точек используется в комбинации с соединением 1, соединением 2 или соединением 3 или его энантиомером, смесью энантиомеров, таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью и биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3 ϵ человека (CD3), предложенным в данном документе, в связи со способами, предложенными в данном документе. В другом варианте осуществления два ингибитора контрольных точек используются в комбинации с соединением 1, соединением 2 или соединением 3, или его энантиомером, смесью энантиомеров, таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью и биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3 ϵ человека (CD3), предложенным в данном документе, отношению к способам, представленным в данном документе, представляет. В другом варианте осуществления три ингибитора контрольных точек используются в комбинации с соединением 1, соединением 2 или соединением 3, или его энантиомером, смесью энантиомеров, таутомером, изотопологом или фармацевтически приемлемой солью и биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3 ϵ человека (CD3), предложенным в данном документе, отношению к способам, представленным в данном документе, представляет.

Применяемый в данном документе термин "ингибитор контрольных точек иммунного ответа" или "ингибитор контрольных точек" относится к молекулам, которые полностью или частично снижают, ингибируют, создают препятствия или модулируют один или более белков контрольных точек. Не ограничиваясь определенной теорией, белки контрольных точек регулируют активацию или функцию Т-клеток. Известны многочисленные белки контрольных точек, такие как CTLA-4 и его лиганды CD80 и CD86 и PD-1 с его лигандами PD-L1 и PD-L2 (Pardoll, Nature Reviews Cancer, 2012, 12, 252-264). Эти белки ответственны за костимулирующие или ингибирующие взаимодействия Т-клеточных ответов. Белки иммунных контрольных точек ответственны за регулирование и поддержание аутоотолерантности, а также продолжительности и амплитуды физиологических иммунных реакций. Ингибиторы иммунных кон-

трольных точек включают антитела или получены из антител.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор CTLA-4. В одном варианте осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой антитело к CTLA-4. Примеры антител к CTLA-4 включают, без ограничения, антитела, описанные в патентах США №№ 5811097; 5811097; 5855887; 6051227; 6207157; 6682736; 6984720 и 7605238, все из которых в полном объеме включены в данный документ посредством ссылки. В одном варианте осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой тремелимумаб (также известный как тицилимумаб или CP-675206). В другом варианте реализации, антитело к CTLA-4 представляет собой ипилимумаб (также известный как MDX-010 или MDX-101). Ипилимумаб является полностью человеческим моноклональным IgG-антителом, которое связывается с CTLA-4. Ипилимумаб представлен на рынке под торговым наименованием Yervoy™.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор PD-1/PD-L1. Примеры ингибиторов PD-1/PD-L1 включают без ограничения таковые, которые описаны в патентах США №№ 7488802; 7943743; 8008449; 8168757; 8217149 и публикациях патентной заявки по РСТ №№ WO 2003042402, WO 2008156712, WO 2010089411, WO 2010036959, WO 2011066342, WO 2011159877, WO 2011082400 и WO 2011161699, все из которых включены в данный документ во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор PD-1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой антитело к PD-1. В одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой BGB-A317, ниволумаб (также известный как ONO-4538, BMS-936558 или MDX1106) или пембролизумаб (также известный как MK-3475, SCH 900475 или ламбролизумаб). В одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб представляет собой моноклональное антитело IgG4 к PD-1 человека, и при этом он представлен на рынке под торговым наименованием Opdivo™. В другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4 и представлен на рынке под торговым наименованием Keytruda™. В еще одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой CT-011, гуманизированное антитело. CT-011 при введении самого по себе не продемонстрировал ответ при лечении острого миелоидного лейкоза (AML) при рецидиве. В еще одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой AMP-224, слитый белок. В другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой BGB-A317. BGB-A317 представляет собой моноклональное антитело, в котором специально разработана способность связываться с Fc гамма-рецептором I, и которое имеет уникальную сигнатуру связывания с PD-1 с высокой аффинностью и превосходной специфичностью к мишени.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор PD-L1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой антитело к PD-L1. В одном варианте осуществления антитело к PD-L1 представляет собой MEDI4736 (дурвалумаб). В другом варианте осуществления антитело к PD-L1 представляет собой BMS-936559 (также известный как MDX-1105-01). В еще одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой атезолизумаб (также известный как MPDL3280A и Tecentriq®).

В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор PD-L2. В одном варианте осуществления ингибитор PD-L2 представляет собой антитело к PD-L2. В одном варианте осуществления антитело к PD-L2 представляет собой rHlgM12B7A.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор гена активации лимфоцитов 3 (LAG-3). В одном варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой IMP321, растворимый слитый белок Ig (Brignone et al., J. Immunol, 2007, 179, 4202-4211). В другом варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой BMS-986016.

В одном варианте осуществления ингибиторы контрольных точек представляют собой ингибитор B7. В одном варианте осуществления ингибитор B7 представляет собой ингибитор B7-H3 или ингибитор B7-H4. В одном варианте осуществления ингибитор B7-H3 представляет собой MGA271, антитело к B7-H3 (Loo et al., Clin. Cancer Res., 2012, 3834).

В одном варианте осуществления ингибиторы контрольных точек представляют собой ингибитор TIM3 (домен Т-клеточного иммуноглобулина и домен муцина 3) (Fourcade et al., J. Exp. Med, 2010, 207, 2175-86; Sakuishi et al., J. Exp. Med, 2010, 207, 2187-94).

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой агонист OX40 (CD134). В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело к OX40. В одном варианте осуществления антитело к OX40 представляет собой анти-OX-40. В другом варианте осуществления антитело к OX40 представляет собой MEDI6469.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой агонист GITR. В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело к GITR. В одном варианте осуществления антитело к GITR представляет собой TRX518.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой агониста

CD137. В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело к CD137. В другом варианте осуществления антитело к CD137 представляет собой урелумаб. В другом варианте осуществления антитело к CD137 представляет собой PF-05082566.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой агониста CD40. В другом варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело к CD40. В другом варианте осуществления антитело к CD40 представляет собой CF-870893.

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой рекомбинантный человеческий интерлейкин-15 (rhIL-15).

В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор IDO. В другом варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой INCB024360. В другом варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой индоксимод.

В некоторых вариантах осуществления виды комбинированной терапии, представленные в данном документе, включают два или более ингибиторов контрольных точек, описанных в данном документе (в том числе ингибиторов контрольных точек одного и того же или отличного класса). Более того, виды комбинированной терапии, описанные в данном документе, могут применяться в комбинации с одним или более вторыми активными средствами, описанными в данном документе, если это необходимо для лечения заболеваний, описанных в данном документе, и предусмотрено в области техники.

В некоторых вариантах осуществления соединения 1, соединение 2 или соединение 3 и биспецифическое антитело, специфически связывающееся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), предложенные в данном документе, можно применять в комбинации с одной или более иммунными клетками, экспрессирующими один или более химерных антигенных рецепторов (CAR) на их поверхности (например, модифицированной иммунной клеткой). Как правило, CAR содержат внеклеточный домен из первого белка (например, антигенсвязывающего белка), трансмембранного домена и внутриклеточного сигнального домена. В некоторых вариантах осуществления, как только внеклеточный домен связывается с белком-мишенью, таким как ассоциированный с опухолью антиген (TAA) или опухолеспецифический антиген (TSA), сигнал генерируется посредством внутриклеточного сигнального домена, который активирует иммунную клетку, например, для нацеливания и уничтожения клетки, экспрессирующей целевой белок

Внеклеточные домены: Внеклеточные домены CAR связываются с представляющим интерес антигеном. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен CAR включает рецептор или часть рецептора, который связывается с указанным антигеном. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен содержит, или представляет собой, антитело или его антигенсвязывающую часть. В конкретных вариантах осуществления внеклеточный домен содержит, или представляет собой, одноцепочечный домен Fv (scFv). Одноцепочечный домен Fv может содержать, например, V_L, связанный с V_H посредством гибкого линкера, где V_L и V_H являются антителами, которые связывают указанный антиген.

В некоторых вариантах осуществления антиген, распознаваемый внеклеточным доменом полипептида, описанный в данном документе, представляет собой ассоциированный с опухолью антиген (TAA) или опухолеспецифический антиген (TSA). В различных конкретных вариантах осуществления, ассоциированный с опухолью антиген или опухолеспецифический антиген представляет собой, без ограничения, Her2, антиген стволовых клеток предстательной железы (PSCA), альфа-фетопrotein (AFP), карциноэмбриональный антиген (CEA), раковый антиген-125 (CA-125), CA19-9, кальретицин, MUC-1, антиген созревания В-клеток (BCMA), эпителиальный мембранный белок (EMA), эпителиальный опухолевый антиген (ETA), тирозиназа, меланома-24-ассоциированный антиген (MAGE), CD19, CD22, CD27, CD30, CD34, CD45, CD70, CD99, CD117, EGFRvIII (вариант III эпидермального фактора роста), мезотелин, PAP (простатическая кислая фосфатаза), простеин, TARP (белок T-клеточного рецептора альтернативной рамки считывания гамма), Trp-p8, STEAPI (шеститрансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы 1), хромогранин, цитокератин, десмин, глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), белок жидкости при острой кистозной болезни (GCDFP-15), антиген HMB-45, белок мелан-А (антиген меланомы, распознаваемый T-лимфоцитами, MART-1), мио-D1, мышечно-специфичный актин (MSA), нейрофиламент, нейрон-специфическая енолаза (NSE), плацентарная щелочная фосфатаза, синптофиз, тиреоглобулин, фактор транскрипции щитовидной железы-1, димерная форма изофермента типа M2 пируват-киназы (опухоль M2-ПК), аномальный gas-белок или аномальный белок p53. В некоторых других вариантах осуществления TAA или TSA, распознаваемые внеклеточным доменом CAR, представляют собой интегрин αvβ3 (CD61), галактин или Ral-B.

В некоторых вариантах осуществления TAA или TSA, распознаваемые внеклеточным доменом CAR, представляют собой раково-тестикулярный антиген (CT), например, BAGE, CAGE, CTAGE, FATE, GAGE, HCA661, HOM-TE5-85, MAGEA, MAGEB, MAGEC, NA88, NY-ES0-1, NY-SAR-35, OY-TE5-1, SPANXBI, SPA17, SSX, SYCP1 или TPTE.

В некоторых других вариантах осуществления TAA или TSA, распознаваемый как внеклеточный домен CAR, представляет собой карбогидрат или ганглиозид, например, fuc-GM1, GM2 (онкофетальный антиген-иммуногенный-1; OFA-I-1); GD2 (OFA-I-2), GM3, GD3 и подобное.

В некоторых других вариантах осуществления ТАА или TSA, распознаваемый как внеклеточный домен CAR представляет собой альфа-актинин-4, Bage-1, BCR-ABL, слитый белок Bcr-Ab1, бета-катенин, CA 125, CA 15-3 (CA 27.29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, Casp-8, cdc27, cdk4, cdkn2a, CEA, coa-1, слитый белок dek-can, EBNA, EF2, антигены вируса Эпштейна-Барра, слитый белок ETV6-AML1, HLA-A2, HLA-All, hsp70-2, KIAA0205, Mart2, Mum-1, 2 и 3, neo-PAP, миозин класса I, OS-9, слитый белок pml-RAR α , PTPRK, K-ras, N-ras, тризофосфатизомераза, Gage 3,4,5,6,7, GnTV, Herv-K-mel, Lage-1, NA-88, NY-Eso-1/Lage-2, SP17, SSX-2, TRP2-Int2, gp100 (Pmel17), тирозиназа, TRP-1, TRP-2, MAGE-1, MAGE-3, RAGE, GAGE-1, GAGE-2, p15(58), RAGE, S-1CP, Hom/Mel-40, PRAME, p53, HRa, HER-2/neu, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, антигены E6 и E7 вируса папилломы человека (HPV), TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, nm-23H1, PSA, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, 13-катенин, Mum-1, p16, TAGE, PSMA, CT7, теломераза, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, 13HCG, BCA225, BTAA, CD68\KP1, C0-029, FGF-5, G250, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB\70K, NY-C0-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90, TAAL6, TAG72, TLP или TPS.

В различных конкретных вариантах осуществления ассоциированный с опухолью антиген или опухолеспецифический антиген представляет собой опухолевые антигены, связанные с AML, как описано в S. Anguille et al, Leukemia (2012), 26, 2186-2196.

Другие связанные с опухолью и опухолеспецифические антигены известны в данной области техники.

Из уровня техники известны рецепторы, антитела и scFv, которые связываются с TSA и ТАА, пригодными для конструирования рецепторов химерных антигенов, а также нуклеотидные последовательности, которые кодируют их.

В некоторых конкретных вариантах осуществления антиген, распознаваемый внеклеточным доменом химерного антигенного рецептора, представляет собой антиген, который обычно не считается TSA или ТАА, но который тем не менее ассоциируется с опухолевыми клетками или повреждением, вызванным опухолью. В некоторых вариантах осуществления, например, антиген представляет собой, например, фактор роста, цитокин или интерлейкин, например, фактор роста, цитокин или интерлейкин, связанный с ангиогенезом или васкулогенезом. Такие факторы роста, цитокины или интерлейкины могут включать, например, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF) или интерлейкин-8 (IL-8). Опухоли могут также создавать гипоксическую среду, локально по отношению к опухоли. Таким образом, в других конкретных вариантах осуществления антиген представляет собой фактор, связанный с гипоксией, например HIF-1 α , HIF-1 β , HIF-2 α , HIF-2 β , HIF-3 α или HIF-3 β . Опухоли могут также вызывать локализованное повреждение нормальной ткани, вызывая высвобождение молекул, известных как молекулы патоген-ассоциированного молекулярного паттерна (DAMP; также известные как алармины). Таким образом, в некоторых других конкретных вариантах осуществления антиген представляет собой DAMP, например, белки теплового шока, бокс 1 связанных с хроматином белков с высокой подвижностью (HBGB 1), S100A8 (MRP8, калгранулин A), S100A9 (MRP14, калгранулин B), сывороточный амилоид A (SAA) или может быть дезоксирибонуклеиновой кислотой, аденозинтрифосфатом, мочевой кислотой или сульфатом гепарина.

Трансмембранный домен

В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен CAR соединяется с трансмембранным доменом полипептида с помощью линкерной, спейсерной или петлевой полипептидной последовательности, например, последовательности из CD28 или последовательности из CTLA4. Трансмембранный домен может быть получен или быть производным из трансмембранного домена любого трансмембранного белка и может включать весь такой трансмембранный домен или его часть. В конкретных вариантах осуществления трансмембранный домен может быть получен или быть производным из, например, CD8, CD16, рецептора цитокинов и рецептора интерлейкина или рецептора фактора роста или тому подобного.

Внутриклеточные сигнальные домены

В конкретных вариантах осуществления внутриклеточный домен CAR представляет собой или содержит внутриклеточный домен или мотив белка, который экспрессируется на поверхности Т-клеток и инициирует активацию и/или пролиферацию указанных Т-клеток. Такой домен или мотив способен передавать первичный антигенсвязывающий сигнал, который необходим для активации Т-лимфоцитов в ответ на связывание антигена с внеклеточной частью CAR. Обычно этот домен или мотив содержит или представляет собой ITAM (мотив активации на основе тирозина иммунорецептора). Полипептиды, содержащие ITAM, подходящие для CAR, включают, например, цепь дзета CD3 (CD3 ζ) или ее содержащие ITAM части. В конкретном варианте осуществления внутриклеточный домен является внутриклеточным сигнальным доменом CD3 ζ . В других конкретных вариантах осуществления внутриклеточный домен представляет собой цепь рецептора лимфоцитов, комплексный белок TCR/CD3, субъединицу рецептора Fe или субъединицу рецептора IL-2. В некоторых вариантах осуществления CAR дополнительно содер-

жит один или более костимулирующих доменов или мотивов, например, как часть внутриклеточного домена полипептида. Один или более костимулирующих доменов или мотивов могут представлять собой или могут содержать одну или более из костимулирующей последовательности полипептида CD27, костимулирующей последовательности полипептида CD28, костимулирующей последовательности полипептида OX40 (CD134), костимулирующей последовательности полипептида 4-1BB (CD137) или костимулирующей индуцибельной полипептидной последовательности Т-клеток (ICOS) или другого костимулирующего домена или мотива или любой их комбинации.

CAR могут также содержать мотив выживания Т-клеток. Мотив выживаемости Т-клеток может быть любой полипептидной последовательностью или мотивом, который облегчает выживаемость Т-лимфоцитов после стимуляции антигеном. В некоторых вариантах осуществления мотив выживания Т-клеток представляет собой или получен из CD3, CD28, внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-7 (IL-7R), внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-12, внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-15, внутриклеточного сигнального домена рецептора IL-21 или внутриклеточного сигнального домена рецептора трансформирующего фактора роста β (TGF β).

Модифицированными иммунными клетками, экспрессирующими CAR, могут быть, например, Т-лимфоциты (Т-клетки, например, CD4+ Т-клетки или CD8+ Т-клетки), цитотоксические лимфоциты (CTL) или естественные клетки-киллеры (NK). Т-лимфоциты, применяемые в композициях и способах, представленные в данном документе, могут быть нативными Т-лимфоцитами или МНС-ограниченными Т-лимфоцитами. В некоторых вариантах осуществления Т-лимфоциты представляют собой инфильтрирующие опухоли лимфоциты (TIL). В некоторых вариантах осуществления Т-лимфоциты были выделены из биопсии опухоли или были размножены из Т-лимфоцитов, выделенных из биопсии опухоли. В некоторых других вариантах осуществления Т-клетки были выделены из или размножены из Т-лимфоцитов, выделенных из периферической крови, пуповинной крови или лимфы. Иммунные клетки, подлежащие применению для генерации модифицированных иммунных клеток, экспрессирующих CAR, могут быть выделены с применением общепринятых, обычных способов, например, сбора крови с последующим аферезом и, необязательно, антителопосредованного выделения или сортировки клеток.

Модифицированные иммунные клетки предпочтительно являются аутологичными индивидууму, которому необходимо вводить модифицированные иммунные клетки. В некоторых других вариантах осуществления модифицированные иммунные клетки предпочтительно являются аллогенными индивидууму, которому необходимо вводить модифицированные иммунные клетки. Когда аллогенные Т-лимфоциты или NK-клетки применяют для получения модифицированных Т-лимфоцитов, предпочтительно выбирают Т-лимфоциты или NK-клетки, что уменьшает вероятность появления реакции "трансплантат против хозяина" (GVHD) у индивида. Например, в некоторых вариантах осуществления вирус-специфические Т-лимфоциты выбраны для получения модифицированных Т-лимфоцитов; ожидается, что такие лимфоциты будут иметь значительно уменьшенную нативную способность связываться с и, таким образом, активироваться любыми антигенами-реципиентами. В некоторых вариантах осуществления отторжение, опосредованное реципиентом, аллогенных Т-лимфоцитов может быть уменьшено путем совместного введения хозяину одного или более иммуносупрессивных агентов, например, циклоспорина, такролимуса, сиролимуса, циклофосамида, или тому подобного.

Т-лимфоциты, например, немодифицированные Т-лимфоциты или Т-лимфоциты, экспрессирующие CD3 и CD28, или содержащие полипептид, содержащий сигнальный домен CD3 ζ и костимулирующий домен CD28, могут быть размножены с применением антител к CD3 и CD28, например антител, прикрепленных к гранулам; смотри, например, патенты США №№ 5948893; 6534055; 6352694; 6692964; 6887466; и 6905681.

Модифицированные иммунные клетки, например, модифицированные Т-лимфоциты, могут необязательно содержать "суицидальный ген" или "предохранительный переключатель", который при желании позволяет убивать по существу все модифицированные иммунные клетки. Например, модифицированные Т-лимфоциты в некоторых вариантах осуществления могут содержать ген HSV-тимидинкиназы (HSV-ТК), который вызывает гибель модифицированных Т-лимфоцитов при контакте с ганцикловиром. В другом варианте осуществления модифицированные Т-лимфоциты содержат индуцибельную каспазу, например, индуцибельную каспазу 9 (icaspase9), например, слитый белок между каспазой 9 и человеческим FK506-связывающим белком, что позволяет димеризоваться с применением специфической фармацевтической малой молекулы. См. Straathof et al., Blood 105(11):4247-4254 (2005).

Ж. Фармацевтические композиции

Фармацевтические композиции, предлагаемые в данном документе, содержат терапевтически эффективное количество одного или нескольких соединений, предлагаемых в данном документе, и необязательно фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество.

В дополнительном варианте осуществления в данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение, предложенное в данном документе, и биспецифическое антитело, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и CD3 ϵ человека (CD3), предложенное в данном документе, фармацевтически приемлемый эксципиент, необязательно,

при этом биспецифическое антитело содержит первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), при этом указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

В одном варианте осуществления композиция предназначена для комбинированного применения при лечении множественной миеломы.

В дополнительном варианте осуществления в данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль и биспецифическое антитело, содержащее первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), предложенное в данном документе, необязательно при этом биспецифическое антитело характеризуется тем, что указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28,

и фармацевтически приемлемый эксципиент. В одном варианте осуществления композиция предназначена для комбинированного применения при лечении множественной миеломы.

Указанные соединения могут быть составлены в подходящие лекарственные формы, такие как растворы, суспензии, таблетки, диспергируемые таблетки, пилюли, капсулы, порошки, препараты с замедленным высвобождением или эликсиры, для перорального введения, или в стерильных растворах или суспензиях для офтальмологического или парентерального введения, а также трансдермальный пластырь и ингаляторы в виде сухого порошка. Как правило, соединения, описанные выше, составлены в фармацевтические композиции с использованием методов и методик, хорошо известных в данной области техники (см, например, Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 7-е изд. 1999).

В данных композициях эффективные концентрации одного или более соединений или их фармацевтически приемлемых солей смешивают с подходящим фармацевтическим носителем или наполнителем. В конкретных вариантах осуществления концентрации соединений в композициях являются эффективными для доставки количества, которое при введении лечит, предотвращает или облегчает один или несколько симптомов и/или прогрессирует множественной миеломы.

Как правило, композиции составлены для однократного введения дозы. Для приготовления композиции массовую навеску соединения растворяют, суспендируют, диспергируют или иным образом смешивают в выбранном наполнителе с такой эффективной концентрацией, что патологическое состояние облегчается или улучшается. Фармацевтические носители или наполнители, подходящие для введения соединений, представленных в данном документе, включают любые такие носители, известные специалистам в данной области техники, подходящие для конкретного способа введения.

Кроме того, соединения могут быть составлены в виде единственного фармацевтически активного ингредиента в композиции или могут быть объединены с другими активными ингредиентами. Липосомальные суспензии, в том числе липосомы, нацеленные на ткани, такие как липосомы, нацеленные на опухоль, также могут быть пригодны в качестве фармацевтически приемлемых носителей. Они могут быть получены в соответствии со способами, известными специалистам в данной области техники. Например, липосомные лекарственные формы могут быть получены, как известно в данной области техники. Вкратце, липосомы, такие как многослойные везикулы (MLV), могут быть образованы путем высушивания яичного фосфатидилхолина и фосфатидилсерина головного мозга (молярное соотношение 7:3) на внутренней стороне колбы. Добавляют раствор соединения, предложенного в данном документе в забуференном фосфатом физиологическом растворе (PBS), лишенном двухвалентных катионов, и колбу перемешивают до тех пор, пока липидная пленка не диспергируется. Полученные везикулы промывают для удаления неинкапсулированного соединения, осаждают центрифугированием и затем ресуспендируют в PBS.

Активное соединение включено в фармацевтически приемлемый наполнитель в количестве, достаточном для оказания терапевтически полезного эффекта в отсутствие нежелательных побочных эффектов для пациента, подвергающегося лечению. Терапевтически эффективная концентрация может быть определена эмпирически путем исследования соединений в *in vitro* и *in vivo* системах, описанных в дан-

ном документе, и затем экстраполирована на основании этого для дозировки для людей.

Концентрация активного соединения в фармацевтической композиции будет зависеть от скоростей абсорбции, распределения в тканях, инактивации, метаболизма и экскреции активного соединения, физико-химических характеристик данного соединения, графика дозирования и количества вводимого вещества, а также других факторов, известных специалистам в данной области техники. Например, количество, которое доставлено, является достаточным для улучшения одного или нескольких симптомов рака, в том числе солидных опухолей и гематологических опухолей.

Растворы или суспензии, применяемые для парентерального, внутрикожного, подкожного или местного применения, могут включать любой из следующих компонентов: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, нелетучее масло, полиэтиленгликоль, глицерин, пропиленгликоль, диметилацетамид или другой синтетический растворитель; противомикробные средства, такие как бензиловый спирт и метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота и бисульфит натрия; хелатирующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА); буферы, такие как ацетаты, цитраты и фосфаты; и средства для регуляции тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Парентеральные препараты могут быть заключены в ампулы, шприцы-ручки, одноразовые шприцы, или одноразовые или многоразовые флаконы из стекла, пластика или другого подходящего материала.

В случаях, когда соединения проявляют недостаточную растворимость, могут быть использованы способы для солюбилизующих соединений. Такие способы известны специалистам в данной области техники и включают, но не ограничиваются ими: применение соразтворителей, таких как диметилсульфоксид (ДМСО), применение поверхностно-активных веществ, таких как TWEEN®, или растворение в водном растворе гидрокарбоната натрия.

При смешивании или добавлении соединения(й) полученная смесь может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию или тому подобное. Лекарственная форма полученной смеси зависит от ряда факторов, включая предполагаемый способ введения и растворимость соединения в выбранном носителе или наполнителе. Эффективная концентрация достаточна для уменьшения симптомов заболевания, нарушения или патологии, и может быть определена эмпирически.

Фармацевтические композиции предназначены для введения людям и животным в виде лекарственных форм единичных доз, таких как таблетки, капсулы, пилюли, порошки, гранулы, стерильные парентеральные растворы или суспензии, и растворы или суспензии для полости рта, а также эмульсии масло-вода, содержащих подходящие количества соединений или их фармацевтически приемлемых солей. Фармацевтически терапевтически активные соединения и их соли составляют и вводят в виде единичных лекарственных форм или лекарственных форм многократных доз. Единичные лекарственные формы, применяемые в данном документе, относятся к физически дискретным единицам, подходящим для людей и животных, и упаковываются индивидуально, как известно в данной области техники. Каждая единичная доза содержит predetermined количество терапевтически активного соединения, достаточного для получения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем, наполнителем или разбавителем. Примеры единичных лекарственных форм включают ампулы и шприцы, и индивидуально упакованные таблетки или капсулы. Единичные лекарственные формы можно вводить в виде частей или их кратных величин. Лекарственная форма многократной дозы представляет собой множество идентичных лекарственных форм единичной дозы, упакованных в один контейнер, которые должны вводиться отдельными лекарственными формами единичной дозы. Примеры лекарственных форм с множеством доз включают флаконы, бутылки таблеток или капсул или бутылки пинт или галлонов. Следовательно, лекарственные формы многократной дозы кратна единичным дозам, которые не разделены в упаковке.

Можно изготовить лекарственные формы или композиции, содержащие активный ингредиент в диапазоне от 0,005 до 100%, где остальную часть составляет нетоксичный носитель. Для перорального введения фармацевтически приемлемую нетоксичную композицию получают путем внесения любого из обычно применяемых наполнителей, таких как, например, фармацевтические классы маннита, лактозы, крахмала, стеарата магния, талька, производных целлюлозы, натрий-кросскармеллозы, глюкозы, сахароза, карбоната магния или сахарин натрия. Такие композиции включают растворы, суспензии, таблетки, капсулы, порошки и лекарственные формы с замедленным высвобождением, такие как, но не ограничиваясь лишь этими: имплантаты и микрокапсулированные системы доставки, и биоразлагаемые биосовместимые полимеры, такие как коллаген, этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, полиортоэферы, полимолочная кислота и другие. Способы получения этих композиций известны специалистам в данной области техники.

Активные соединения или фармацевтически приемлемые соли могут быть получены с носителями, которые защищают соединение от быстрого выведения из организма, такими как лекарственные формы для высвобождения со временем или препараты с покрытием.

Композиции могут содержать другие активные соединения для получения желаемых комбинаций свойств. Соединения, предложенные в данном описании, или их фармацевтически приемлемые соли, как описано в данном документе, также могут быть преимущественно введены в терапевтических или про-

филактических целях вместе с другим фармакологическим средством, которое известно в общем уровне техники как полезное для лечения одного или более заболеваний или медицинских состояний, упомянутых выше в данном документе, таких как болезни, связанные с окислительным стрессом. Следует понимать, что такая комбинированная терапия представляет собой дополнительный аспект композиций и способов лечения, представленных в данном документе.

К. Оценка активности и свойств комбинации

Стандартные физиологические, фармакологические и биохимические процедуры доступны для исследования соединений для идентификации тех, которые обладают желаемыми свойствами, в том числе активностью против пролиферации множественной миеломы и адекватным профилем безопасности. Такие анализы включают, например, биохимические анализы, такие как анализы связывания, анализы радиоактивных включений, а также различные анализы на основе клеток.

Понятно, что вышеприведенное подробное описание и сопроводительные примеры являются всего лишь иллюстративными, и их не следует воспринимать как ограничение объема объекта изобретения. Различные изменения и модификации описанных вариантов осуществления будут очевидны специалистам в данной области техники. Такие изменения и модификации, включая, без ограничения, относящиеся к химическим структурам, заместителям, производным, промежуточным соединениям, синтезу, составу и/или способам применения, приведенным в данном документе, можно осуществлять, не отступая от его сущности и объема. Патенты США и публикации, упоминаемые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки.

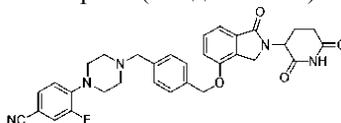
5. Примеры

Некоторые варианты осуществления данного изобретения проиллюстрированы следующими неограничивающими примерами.

Сокращения:

АІВN: азобисизобутиронитрил
 Вос *трет*-бутоксикарбонил
 Вос₂O ди-*трет*-бутилдикарбонат
 tBuOK *Трет*-бутоксид калия
 ДИПЭА диизопропилэтиламин
 ДМФА N, N'-Диметилформамид
 EtOAc этилацетат
 MeOH метанол
 MM множественная миелома
 NBS: N-бромсукцинимид
 ЯМР ядерный магнитный резонанс
 i-PrOAc: изопропилацетат
 TBSCl трет-бутилдиметилсилилхлорид
 ТГФ тетрагидрофуран
 ТСХ тонкослойная хроматография
 TMSCl триметилсилилхлорид

Пример 1. Синтез 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила (Соединение 1).



2-Амино-5-метокси-5-оксопентановая кислота.

К суспензии 2-аминопентандиновой кислоты (250 г, 1,70 моль) в сухом метаноле (2,5 л) в атмосфере азота добавляли триметилсилилхлорид (277 г, 2,55 моль) в течение 30 мин. Полученный прозрачный раствор перемешивали при комнатной температуре (20°C) в течение 30 мин. ¹H ЯМР показал, что исходный материал был израсходован полностью. Реакционную смесь использовали на следующей стадии без дополнительной обработки.

¹H ЯМР: 400 МГц CD₃OD δ: 4,17-4,15 (м, 1H), 3,71 (с, 3H), 2,70-2,60 (м, 2H), 2,33-2,25 (м, 2H).

2-((трет-Бутоксикарбонил)амино)-5-метокси-5-оксопентановая кислота.

К полученному раствору добавляли триэтиламин (275 г, 2,72 моль) и ди-трет-бутилдикарбонат (447,35 г, 2,05 моль). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Раствор упаривали до суха, затем добавляли воду (2,5 л) для растворения остатка. Полученную водную фазу промывали этилацетатом (200 мл), затем подкисляли до pH=3 с помощью HCl (1N) и экстрагировали этилацетатом (1л × 3). Органические слои промывали солевым раствором (800 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением 2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-метокси-5-оксопентановой кислоты (250 г, выход 56%, две стадии) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР: 400 МГц CD₃OD δ: 4,18-4,11 (м, 1H), 3,69 (с, 3H), 2,48-2,43 (м, 2H), 2,21-2,15 (м, 1H), 1,95-

1,91 (м, 1H), 1,46 (с, 9H).

Метил 5-амино-4-(трет-бутоксикарбониламино)-5-оксопентаноат.

К раствору 2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-метокси-5-оксопентановой кислоты (200 г, 765 ммоль) в 1,4-диоксане (1,5 л) добавляли ди-трет-бутил дикарбонат (267 г, 1,22 ммоль) и пиридин (121 г, 1,53 моль). После того, как реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 30 мин, к смеси добавляли карбонат аммония (182 г, 2,30 моль) и перемешивали в течение еще 16 ч при 25°C. Органический растворитель удаляли на роторном испарителе, остаток подкисляли HCl (6 M) до pH=3, а затем экстрагировали этилацетатом (800 мл × 3). Объединенную органическую фазу промывали соевым раствором (800 мл), сушили над сульфатом натрия и фильтровали. Летучие органические вещества удаляли при пониженном давлении, получая метил-5-амино-4-(трет-бутоксикарбониламино)-5-оксопентаноат (180 г, выход 90%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР: 400 МГц CDCl₃ δ: 6,51 (с, 1H), 5,94 (с, 1H), 5,43 (с, 1H), 4,21 (с, 1H), 3,63 (с, 3H), 2,59-2,40 (м, 2H), 2,15-2,11 (м, 1H), 1,94-1,90 (с, 1H), 1,42 (с, 9H).

Метил 4,5-диамино-5-оксопентаноат гидрохлорид.

Смесь метил 5-амино-4-(трет-бутоксикарбониламино)-5-оксопентаноата (180 г, 692 ммоль) и HCl/этилацетат (300 мл, 4 M) перемешивали при 25°C в течение 12 ч. Осажденное твердое вещество собирали вакуумной фильтрацией и промывали этилацетатом (500 мл) с получением гидрохлорида метил-4,5-диамино-5-оксопентаноата (130 г, выход 95%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР: 400 МГц CD₃OD δ: 4,00-3,96 (м, 1H), 3,70 (с, 3H), 2,59-2,52 (м, 2H), 2,22-2,13 (м, 2H).

Метил 3-гидрокси-2-метилбензоат.

Четыре загрузки (200 г каждая) проводили параллельно. К раствору 3-гидрокси-2-метилбензойной кислоты (200 г, 1,31 моль) в метаноле (4,0 л) добавляли концентрированную серную кислоту (47,7 г, 486 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 17 ч. Реакционную смесь упаривали до 800 мл. Полученную смесь охлаждали до 20°C и медленно выливали в воду (400 мл) в течение 30 мин. Добавляли воду (1200 мл) при 20°C в течение 3 ч и полученную смесь перемешивали при 20°C в течение 1 ч. Осажденное твердое вещество собирали вакуумной фильтрацией (четыре партии объединены) и трижды промывали водой/метанолом (1000 мл, 9:1) до pH > 3. Твердое вещество сушили в вакууме при 45°C с получением метил-3-гидрокси-2-метилбензоата (700 г, выход 80,4%) в виде серого твердого вещества.

¹H ЯМР: 400 МГц DMSO-d₆ δ: 9,70 (s, 1H), 7,18 (т, J=6,8 Гц, 1H), 7,09 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,00 (т, J=6,8 Гц, 1H), 3,81 (с, 3H), 2,29 (с, 3H).

Метил-3-[трет-бутил(диметил)силил]окси-2-метилбензоат.

Две загрузки (240 г каждая) проводили параллельно. К раствору метил 3-гидрокси-2-метилбензоата (240 г, 1,44 моль) в N, N-диметилформамиде (1,40 л) добавляли имидазол (246 г, 3,61 моль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (238 г, 1,58 моль) при 5°C. После добавления смесь нагревали до 20°C и перемешивали в течение 6 ч. Добавляли изопропилацетат (1700 мл), а затем медленно добавляли воду (2000 мл) в то время как температуру поддерживали ниже 30°C. Полученную смесь перемешивали, и органическую фазу отделяли. Объединенную органическую фазу (объединенные две загрузки) промывали водой (1700 мл × 3) и упаривали до ~1500 мл (KF < 0,05%). Продукт хранили в виде раствора в изопропилацетате, который использовали для следующей стадии без дополнительной очистки.

Метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоат.

Две загрузки (~375 г каждая) проводили параллельно. К раствору метил 3-[трет-бутил(диметил)силил]окси-2-метилбензоата (~375 г, 1,34 моль) в изопропилацетате добавляли N-бромсукцинимид (274 г, 1,54 моль) и азобисизобутиронитрил (4,40 г, 26,8 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 70°C в течение по меньшей мере 1 ч и перемешивали при 70°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до 20°C и выдерживали при 20°C в течение по меньшей мере 1 ч. Две загрузки твердого вещества (сукцинимид) удаляли фильтрованием и промывали изопропилацетатом (700 мл). Фильтрат промывали насыщенным раствором сульфита натрия (700 г) в воде (6000 мл), затем водой (1500 мл). Органический слой перегоняли в вакууме при 45°C досуха, получая метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоат. (920 г, выход 95,5%) в виде темно-оранжевого масла.

¹H ЯМР: 400 МГц DMSO-d₆ δ: 7,45 (д, J=6,8 Гц, 1H), 7,36 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,13 (т, J=7,2 Гц, 1H), 4,95 (с, 2H), 1,02 (с, 9H), 0,29 (с, 6H).

Метил 5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноат.

К перемешиваемому раствору метил 4,5-диамино-5-оксопентаноат гидрохлорида (74,5 г, 379 ммоль) в ацетонитриле (2,50 л) добавляли метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоат (125 г, 348 ммоль). К суспензии добавляли диизопропилэтиламин (89,9 г, 696 ммоль) через капельную воронку в течение 10 мин и затем смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (1,0 л), последовательно промывали HCl (1H, 1,0 л), гидрокарбонатом натрия (нас. 1,0 л) и соевым раствором (1,0 л). Органический слой упаривали с получением неочищенного метил 5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопен-

таноата (108 г, неочищенный продукт) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: m/z 407,3 $[M+1]^+$.

Метил 5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат.

К перемешиваемому холодному раствору метил 5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноата (108 г, 266 ммоль) в *N,N*-диметилформамиде (350 мл) порциями добавляли карбонат калия (14,7 г, 106 ммоль) в воде (40 мл) в течение 5 мин. Полученную реакционную смесь перемешивали при 15°C в течение 15 ч. Реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и медленно добавляли HCl (12 М, 15 мл) при 0-5°C. К смеси добавляли ацетонитрил (200 мл) и образовывался твердый осадок. Суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин и фильтровали. Осадок на фильтре промывали этилацетатом (200 мл \times 5) с получением продукта (55 г). Фильтрат упаривали под высоким вакуумом с получением неочищенного продукта (100 г) который растворяли в дихлорметане (1,0 л) и оставляли стоять при 15°C в течение 16 ч. Образовывалось белое твердое вещество, которое фильтровали с получением 5 г продукта. Твердые вещества объединяли с получением метил-5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (60 г, выход 77%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР: 400 МГц ДМСО- d_6 δ : 7,58 (с, 1H), 7,31 (т, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,19-7,14 (м, 2H), 7,01 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 4,75-4,71 (м, 1H), 4,50 (д, $J=17,6$ Гц, 1H), 4,32 (д, $J=17,6$ Гц, 1H), 3,51 (с, 3H), 2,29-2,18 (м, 3H), 2,09-1,99 (м, 1H).

Метил 5-амино-4-[4-[[4-(бромметил)фенил]метокси]-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноат.

Две реакции (25 г, 85,5 ммоль) проводили параллельно. Смесь 1,4-бис(бромметил)бензола (67,7 г, 257 ммоль), карбоната калия (11,8 г, 85,5 ммоль) и метил 5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (25 г, 85,5 ммоль) в ацетонитриле (1 л) перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Две загрузки объединяли и смесь охлаждали до 15°C и фильтровали. Фильтрат концентрировали и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюируя от 50% петролейного эфира в этилацетате до 100% этилацетата) с получением метил-5-амино-4-[4-[[4-(бромметил)фенил]метокси]-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноат (52 г, выход 63%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР: 400 МГц ДМСО- d_6 δ : 7,59 (с, 1H), 7,50-7,44 (м, 5H), 7,32-7,28 (м, 2H), 7,19 (с, 1H), 5,26 (с, 2H), 4,79-4,71 (м, 3H), 4,55 (д, $J=17,6$ Гц, 1H), 4,43 (д, $J=17,6$ Гц, 1H), 3,52 (с, 3H), 2,30-2,19 (м, 3H), 2,10-2,08 (м, 1H).

3-[4-[[4-(бромметил)фенил]метокси]-1-оксоизоиндолин-2-ил]пиперидин-2,6-дион.

Две реакции (28,5 г, 60,0 ммоль) проводили параллельно. Метил 5-амино-4-[4-[[4-(бромметил)фенил]метокси]-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноат (28,5 г, 60,0 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (720 мл) и раствор охлаждали баней с сухим льдом/ацетоном до -70°C. При перемешивании к прозрачному раствору одной порцией добавляли трет-бутоксид калия (7,4 г, 66,0 ммоль). Реакционная смесь приобрела бледно-желтый цвет и перемешивание продолжали в течение еще 2 ч при -70°C. Охлажденный раствор HCl (1 Н, 260 мл) быстро добавляли в реакционную смесь, поддерживая температуру на уровне -70°C. Смесь сразу же стала молочно-белой, и баню сухой лед/ацетон удаляли. Смесь упаривали для удаления большей части тетрагидрофурана. После упаривания реакционной смеси осаждалось белое твердое вещество. Белую суспензию разбавляли водой (500 мл) и затем фильтровали. Осадок на фильтре промывали водой (500 мл) и сушили в вакуумной печи при 40°C в течение 12 ч, затем промывали этилацетатом (500 мл). Партии объединяли, чтобы получить 3-[4-[[4-(бромметил)фенил]метокси]-1-оксоизоиндолин-2-ил]пиперидин-2,6-дион (49,85 г, 93%) в виде светлого желтого твердого вещества.

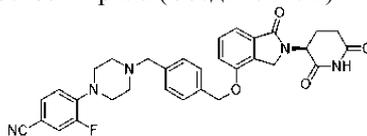
^1H ЯМР: 400 МГц ДМСО- d_6 δ : 10,95 (с, 1H), 7,51-7,41 (м., 5H), 7,35-7,28 (м, 2H), 5,23 (с, 2H), 5,12-5,07 (м, 1H), 4,70 (с, 2H), 4,41 (д, $J=17,6$ Гц, 1H), 4,25 (д, $J=17,6$ Гц, 1H), 2,90-2,84 (м, 1H), 2,58-2,53 (м, 1H), 2,44-2,41 (м, 1H), 1,98-1,95 (м, 1H).

4-(4-(4-(((2-(2,6-Диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил.

3-(4-((4-(Бромметил)бензил)окси)-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (5,0 г, 11,28 ммоль) добавляли в колбу с 3-фтор-4-(пиперазин-1-ил)бензонитрилом (2,315 г, 11,28 ммоль), диизопропилэтиламином (5,91 мл, 33,8 ммоль) и ацетонитрилом (100 мл). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 18 ч. Летучие органические вещества удаляли при пониженном давлении и очисткой стандартными методами получали 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 10,97 (с, 1H), 7,68 (дд, $J=1,96, 13,45$ Гц, 1H), 7,56 (дд, $J=1,77, 8,38$ Гц, 1H), 7,43-7,52 (м, 3H), 7,30-7,38 (м, 4H), 7,11 (т, $J=8,80$ Гц, 1H), 5,24 (с, 2H), 5,11 (дд, $J=5,14, 13,33$ Гц, 1H), 4,37-4,46 (м, 1H), 4,22-4,30 (м, 1H), 3,54 (с, 2H), 3,12-3,23 (м, 4H), 2,84-2,98 (м, 1H), 2,52-2,62 (м, 5H), 2,36-2,48 (м, 1H), 1,92-2,04 (м, 1H). МС (ESI) m/z 568,2 $[M+1]^+$. Анал. расчет для $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{FN}_5\text{O}_4$: С, 67,71; Н, 5,33; N, 12,34. Наблюдаемое: С, 67,50; Н, 5,44; N 12,34.

Пример 2. Синтез (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила (Соединение 2)



трет-Бутил (4S)-5-амино-4-(бензилоксикарбониламино)-5-оксо-пентаноат.

К раствору (2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5-трет-бутокси-5-оксопентановой кислоты (150 г, 445 ммоль) в 1,4-диоксане (1,50 л) добавляли ди-трет-бутил дикарбонат (155 г, 711 ммоль), пиридин (70,3 г, 889 ммоль) и аммоний гидрокарбонат (105 г, 1,33 моль). Реакционную смесь перемешивали при 18°C в течение 16 ч и затем упаривали. Остаток растворяли в этилацетате (5,0 л) и воде (5,0 л), органический слой отделяли и промывали HCl (3,0 мл, 1 Н), насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (3,0 л), соевым раствором (3,0 л), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением неочищенного трет-бутил (4S)-5-амино-4-(бензилоксикарбониламино)-5-оксопентаноата (450 г, неочищенный) в виде белого твердого вещества, которое использовали в следующей стадии без дополнительной очистки.

¹H ЯМР 400 МГц ДМСО-d₆ δ: 7,35-7,30 (м, 5H), 7,02 (с, 1H), 5,01 (д, J=3,2 Гц, 1H), 3,93-3,90 (м, 1H), 2,20 (т, J=8,0 Гц, 2H), 1,88-1,84 (м, 1H), 1,72-1,69 (м, 1H), 1,35 (с, 9H).

трет-Бутил (4S)-4,5-диамино-5-оксопентаноат.

К раствору трет-бутил (4S)-5-амино-4-(бензилоксикарбониламино)-5-оксопентаноата (112 г, 333 ммоль) в метаноле (1,0 л) добавляли 10% палладий на угле (15 г) в атмосфере азота. Суспензию дегазировали под вакуумом и продували водородом несколько раз. Смесь перемешивали под атмосферой водорода (40 фунт/кв. дюйм, 2,75 Бар) при 30°C в течение 16 ч. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали, получая неочищенный трет-бутил (4S)-4,5-диамино-5-оксопентаноат в виде бесцветного масла.

¹H ЯМР 400 МГц ДМСО-d₆ δ: 7,30 (с, 1H), 6,95 (с, 1H), 3,10-3,07 (м, 1H), 2,27-2,23 (м, 2H), 1,69-1,78 (м, 1H), 1,59-1,55 (м, 1H), 1,38 (с, 9H).

Метил 3-гидрокси-2-метилбензоат.

Четыре загрузки (200 г каждая) проводили параллельно. К раствору 3-гидрокси-2-метилбензойной кислоты (200 г, 1,31 моль) в метаноле (4,0 л) добавляли концентрированную серную кислоту (47,7 г, 486 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 17 ч. Реакционную смесь упаривали до 800 мл. Полученную смесь охлаждали до 20°C и медленно выливали в воду (400 мл) в течение 30 мин. Добавляли воду (1200 мл) при 20°C в течение 3 ч и полученную смесь перемешивали при 20°C в течение 1 ч. Осажденное твердое вещество собирали вакуумной фильтрацией (четыре партии объединены) и трижды промывали водой/метанолом (1000 мл, 9:1) до pH > 3. Твердое вещество сушили в вакууме при 45°C с получением метил-3-гидрокси-2-метилбензоата (700 г, выход 80,4%) в виде серого твердого вещества.

¹H ЯМР: 400 МГц ДМСО-d₆ δ: 9,70 (s, 1H), 7,18 (т, J=6,8 Гц, 1H), 7,09 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,00 (т, J=6,8 Гц, 1H), 3,81 (с, 3H), 2,29 (с, 3H).

Метил-3-[трет-бутил(диметил)силил]окси-2-метилбензоат.

Две загрузки (240 г каждая) проводили параллельно. К раствору метил 3-гидрокси-2-метилбензоата (240 г, 1,44 моль) в N,N-диметилформамиде (1,40 л) добавляли имидазол (246 г, 3,61 моль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (238 г, 1,58 моль) при 5°C. После добавления смесь нагревали до 20°C и перемешивали в течение 6 ч. Добавляли изопропилацетат (1700 мл), а затем медленно добавляли воду (2000 мл) в то время как температуру поддерживали ниже 30°C. Полученную смесь перемешивали с последующим отделением органической фазы. Объединенные органические фазы (объединенные две загрузки) промывали водой (1700 мл × 3) и упаривали до ~1500 мл (KF < 0,05%). Продукт хранили в виде раствора в изопропилацетате, который использовали для следующей стадии без дополнительной очистки.

Метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]окси-бензоат. Две загрузки (~375 г каждая) проводили параллельно. К раствору метил 3-[трет-бутил(диметил)силил]окси-2-метилбензоата (~375 г, 1,34 моль) в изопропилацетате добавляли N-бромсукцинимид (274 г, 1,54 моль) и азобисизобутиронитрил (4,40 г, 26,8 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 70°C в течение по меньшей мере 1 ч и перемешивали при 70°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до 20°C и выдерживали при 20°C в течение по меньшей мере 1 ч. Две загрузки твердого вещества (сукцинимид) удаляли фильтрованием и промывали изопропилацетатом (700 мл). Фильтрат промывали насыщенным раствором сульфита натрия (700 г) в воде (6000 мл), затем водой (1500 мл). Органический слой перегоняли в вакууме при 45°C досуха, получая метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоат. (920 г, выход 95,5%) в виде темно-оранжевого масла.

¹H ЯМР: 400 МГц ДМСО-d₆ δ: 7,45 (д, J=6,8 Гц, 1H), 7,36 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,13 (т, J=7,2 Гц, 1H),

4,95 (с, 2H), 1,02 (с, 9H), 0,29 (с, 6H).

трет-Бутил (4S)-5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноат.

К раствору трет-бутил (4S)-4,5-диамино-5-оксопентаноата (130 г, 643 ммоль) в ацетонитриле (4,0 л) добавляли метил 2-(бромметил)-3-[трет-бутил(диметил)силил]оксибензоат (210 г, 584 ммоль) и диизопропилэтиламин (113 г, 877 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 16 ч. Реакционную смесь упаривали для удаления большей части ацетонитрила, остаток растворяли в метил-трет-бутиловом эфире (2,0 л) и воде (1,5 л), органический слой промывали насыщенным раствором дигидрофосфата калия (1,0 л × 2), соевым раствором (1,0 л), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением неочищенного трет-бутил (4S)-5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноата (524 г), который использовали в следующей стадии без дополнительной очистки.

трет-Бутил (4S)-5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксо-изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат.

К раствору трет-бутил (4S)-5-амино-4-[4-[трет-бутил(диметил)силил]окси-1-оксоизоиндолин-2-ил]-5-оксопентаноата (275 г, 613 ммоль) в метаноле (2,0 л) добавляли тетрабутиламмоний фторид тригидрат (38,7 г, 123 ммоль). Смесь перемешивали при 18°C в течение 16 ч. Реакционную смесь упаривали для удаления большей части метанола, остаток растворяли в дихлорметане/воде (3 л/ 2 л), органический слой промывали соевым раствором (1,0 л), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением неочищенного продукта который очищали на колонке с силикагелем с получением продукта (260 г). Продукт добавляли в ацетонитрил (750 мл) и смесь перемешивали при 60°C в течение 2 ч, охлаждали до 18°C и перемешивали в течение еще 2 ч. Твердое вещество фильтровали и осадок сушили с получением трет-бутил (4S)-5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (248 г, выход 60,5%) в виде серого твердого вещества.

¹H ЯМР 400 МГц ДМСО-d₆ δ: 10,00 (с, 1H), 7,54 (с, 1H), 7,29 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,14 (д, J=4,8 Гц, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,49-4,28 (м, 2H), 2,17-1,97 (м, 4H), 1,31 (с, 9H).

4-(4-(4-(Хлорметил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил.

1,4-бис(Хлорметил)бензол (51,2 г, 292 ммоль) помещали в колбу с ацетонитрилом (195 мл) и N,N-диметилформамидом (195 мл). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды до полного растворения твердых веществ. Затем добавляли диизопропиламин (51,1 мл, 292 ммоль) вместе с 3-фтор-4-(пиперазин-1-ил)бензонитрилом (20 г, 97 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 60°C в течение 1 ч. Ацетонитрил удаляли при пониженном давлении. Оставшуюся смесь отмывали с помощью этилацетата (1,0 л), воды (700 мл) и солевого раствора (300 мл). Органический слой отделяли и водный слой дважды экстрагировали этилацетатом. Летучие органические вещества удаляли при пониженном давлении. Твердое вещество растворяли в минимальном количестве дихлорметана и очищали на колонке с силикагелем (0-100% этилацетата в гексане в течение 3 л). Фракции, содержащие желаемый продукт, объединяли и летучие органические вещества удаляли при пониженном давлении. Остаток растворяли в минимальном количестве дихлорметана и очищали второй раз на колонке с силикагелем (изократический 10% этилацетат в гексане в течение 800 мл, затем 20-80% этилацетата в гексане в течение 4 л). Фракции, содержащие желаемый продукт, объединяли и летучие органические вещества удаляли при пониженном давлении с получением 4-(4-(4-(хлорметил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила (22,7 г, 66,0 ммоль, выход 67,7%) как грязно белое твердое вещество.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ м.д. 7,33-7,39 (м, 5H) 7,29 (д, J=1,96 Гц, 1H) 7,25 (д, J=1,96 Гц, 1H) 6,91 (т, J=8,56 Гц, 1H) 4,60 (с, 2H) 3,58 (с, 2H) 3,19-3,27 (м, 4H) 2,58-2,66 (м, 4H). МС (ESI) m/z 344,2 [M+1]⁺.

(S)-трет-бутил 5-амино-4-(4-((4-(4-циано-2-фторфенил)пиперазин-1-ил)метил)бензил)окси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат.

(S)-трет-бутил 5-амино-4-(4-гидрокси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат (22,05 г, 65,9 ммоль) добавляли в колбу с 4-(4-(4-(хлорметил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрилом (22,67 г, 65,9 ммоль), карбонатом калия (18,23 г, 132 ммоль) и N,N-диметилформамидом (330 мл). Реакционную смесь нагревали при 45°C в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (50 мл) фильтровали. Фильтрат отмывали с помощью этилацетата (900 мл), воды (600 мл) и солевого раствора (200 мл). Органический слой отделяли и разделяли водой (600 мл). Органический слой отделяли и все органические слои объединяли, сушили над сульфатом натрия и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Остаток обрабатывали 20% этилацетатом в гексане и летучие вещества удаляли при пониженном давлении с получением (S)-трет-бутил 5-амино-4-(4-((4-(4-циано-2-фторфенил)пиперазин-1-ил)метил)бензил)окси-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (44,02 г, 68,6 ммоль, выход 104%) в виде сероватого твердого вещества. Выход был немного выше количественного, поскольку оставалось некоторое количество, N-диметилформамида.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ м.д. 7,43-7,49 (м, 2H) 7,40 (с, 4H) 7,36 (дд, J=8,38, 1,28 Гц, 1H) 7,29 (д, J=1,96 Гц, 1H) 7,26 (д, J=1,83 Гц, 1H) 7,11 (дд, J=7,64, 1,16 Гц, 1H) 6,92 (т, J=8,50 Гц, 1H) 6,23 (уш с, 1H) 5,24-5,32 (м, 1H) 5,15 (с, 2H) 4,86-4,94 (м, 1H) 4,38-4,55 (м, 2H) 3,61 (с, 2H) 3,18-3,32 (м, 4H) 2,58-2,70 (м, 4H) 2,09-2,47 (м, 4H) 1,43 (с, 8H). МС (ESI) m/z 642,4 [M+1]⁺.

(S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил.

(S)-трет-бутил 5-амино-4-(4-(((4-(4-циано-2-фторфенил)пиперазин-1-ил)метил)бензил)окси)-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат (12,1 г, 18,86 ммоль) добавляли во флакон с ацетонитрилом (189 мл) и бензолсульфоновой кислотой (3,96 г, 24,51 ммоль). Реакционную смесь помещали под вакуум и продували азотом. Данную процедуру повторяли еще раз и полученную смесь затем нагревали до 85°C в течение ночи в атмосфере азота. Реакционную смесь выливали теплой непосредственно в 2 делительных воронки, содержащих дихлорметан (1000 мл) и этилацетат (300 мл). К данной смеси добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия (900 мл), воду (100 мл) и солевой раствор (450 мл). Органический слой отделяли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (800 мл) и этилацетатом (200 мл). Объединенные органические слои сушили над безводным сульфатом магния и упаривали. Очистка стандартными методами дала указанное в заголовке соединение.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д. 10,96 (с, 1H) 7,68 (дд, J=13,45, 1,83 Гц, 1H) 7,56 (дд, J=8,44, 1,83 Гц, 1H) 7,43-7,52 (м, 3 H) 7,29-7,39 (м, 4H) 7,11 (т, J=8,80 Гц, 1H) 5,24 (с, 2H) 5,11 (дд, J=13,20, 5,14 Гц, 1H) 4,22-4,46 (м, 2H) 3,54 (с, 2H) 3,12-3,22 (м, 4H) 2,85-2,97 (м, 1H) 2,53-2,62 (м, 2 H) 2,38-2,48 (м, 2H) 1,93-2,03 (м, 1H). MS (ESI) m/z 568,2 [M+1]⁺.

Пример 3. Антитела к CD3

Предпочтительно антитело к CD3 содержит вариабельный домен VH, содержащий CDR тяжелой цепи с SEQ ID NO: 1, 2 и 3 как CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, соответственно, и вариабельный домен VL, содержащий CDR легкой цепи с SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи. Предпочтительно антитело содержит вариабельные домены с SEQ ID NO: 7 (VH) и с SEQ ID NO: 8 (VL). Антитела к CD3, как описано выше, использовали для создания биспецифических антител к Т-клеткам в соответствии со следующим примером.

Пример 4. Получение биспецифических антител к ВСМА/CD3 Т-клеток в формате, содержащем Fc 2+1.

кДНК, кодирующие полные тяжелые и легкие цепи соответствующих антител IgG1 к ВСМА, а также кДНК VH и VL к CD3, использовали в качестве исходных материалов. Для каждого биспецифического антитела были задействованы четыре белковые цепи, включающие тяжелую и легкую цепи соответствующего антитела к ВСМА и тяжелую и легкую цепи антитела к CD3, описанные выше, соответственно. Чтобы свести к минимуму образование побочных продуктов с неправильно спаренными тяжелыми цепями, например с двумя тяжелыми цепями антитела к CD3, используется мутированная гетеродимерная область Fc, несущая мутации типа "выступ во впадину" и сконструированная дисульфидная связь, как описано в WO 2009080251 и WO 2009080252. Чтобы минимизировать образование побочных продуктов с неспаренными легкими цепями, например, с двумя легкими цепями антитела к ВСМА, константный каппа-кроссовер CH1 х применяется к тяжелой и легкой цепям антитела к CD3 с использованием методик, описанных в WO 2009080251 и WO 2009080252.

а) Биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 Т-клеток с форматом 2+1, то есть биспецифическое антитело (Fab)₂ х (Fab), которое является бивалентным для ВСМА и моновалентным для CD3, будет иметь преимущества в отношении активности, предсказуемости эффективности и безопасности, потому что оно будет предпочтительно связываться с опухолью-мишенью ВСМА и избегать поглощения антител CD3, что повышает вероятность воздействия лекарственного средства на опухоль.

Биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 Т-клеток с форматом 2+1, то есть биспецифическое антитело (Fab)₂ х (Fab), которое является бивалентным для ВСМА и моновалентные для CD3 с Fc, были продуцированы для ранее выбранных человеческих антител к ВСМА. КДНК, кодирующие полные Fab (домены VH и CH1 тяжелой цепи плюс домены VL и CL легкой цепи) соответствующих антител IgG1 к ВСМА, а также кДНК VH и VL к CD3 были использованы в качестве исходных материалов. Для каждого биспецифического антитела были задействованы четыре белковые цепи, включающие тяжелую и легкую цепи соответствующего антитела к ВСМА и тяжелую и легкую цепи антитела к CD3, описанные выше, с Fc областями соответственно.

Вкратце, каждое биспецифическое антитело продуцируется одновременной котрансфекцией четырех экспрессионных векторов млекопитающих, кодирующих соответственно: а) кДНК полноразмерной легкой цепи соответствующего антитела к ВСМА, б) гибридную кДНК, полученную стандартными методами молекулярной биологии, такими как ПЦР с перекрытием-сплайсингом и удлинением, кодирующую слитый белок, состоящий из (в порядке от N- до C-конца) секреторной лидерной последовательности, Fab (VH, за которым следуют домены CH1) соответствующего антитела к ВСМА, описанного выше, гибкого линкера глицин(Gly)-серин(Ser) с последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, Fab (VH, за которым следуют домены CH1) соответствующего антитела к ВСМА, описанного выше, гибкого линкера глицин(Gly)-серин(Ser) с последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, VH антитела к CD3, описанного выше, и константного каппа-домена кДНК легкой цепи человека, в) слитую кДНК, полученную стандартными методами молекулярной биологии, такими как ПЦР с перекрытием-сплайсингом и удлинением, кодирующую слитый белок, состоящий из секреторной лидерной

последовательности (в порядке от N- до C-конца), VL антитела к CD3, описанного выше, кДНК константного домена CH1 IgG1 человека. Котрансфекция клеток млекопитающих и создание и очистка антител с использованием методов, описанных выше для продуцирования человеческих или гуманизированных антител IgG1, с одной модификацией: для очистки антител первая стадия захвата не выполняется с использованием белком А, а вместо этого выполняется с использованием колонки, такой как CapraSelect, для аффинной хроматографии, заполненная смолой, связывающейся с константной областью легкой каппа-цепи человека (GE Healthcare Life Sciences). Кроме того, можно включить дисульфид для увеличения стабильности и выхода, а также дополнительные остатки, образующие ионные мостики и увеличивающие выходы гетеродимеризации (EP 1870459A1).

Для создания векторов биспецифических антител ВСМАхCD3 биспецифические молекулы, полученные из IgG1, состоят по меньшей мере из двух антигенсвязывающих групп, способных специфически связываться с двумя различными антигенными детерминантами CD3 и ВСМА. Антигенсвязывающие фрагменты представляют собой Fab-фрагменты, состоящие из тяжелой и легкой цепей, каждая из которых содержит переменную и константную области. По меньшей мере один из Fab-фрагментов был фрагментом "Crossfab", в котором константные домены тяжелой и легкой цепи Fab были заменены. Обмен константных доменов тяжелой и легкой цепей внутри Fab-фрагмента гарантирует, что Fab-фрагменты с разной специфичностью не имеют идентичного расположения доменов и, следовательно, не обмениваются легкими цепями. Конструкция биспецифической молекулы была одновалентной для CD3 и двухвалентной для ВСМА, где один Fab-фрагмент слит с N-концом внутреннего CrossFab (2+1). Биспецифическая молекула содержала часть Fc, чтобы иметь более длительный период полужизни. Схематическое изображение конструкций представлено на фиг. 1А, 1В, 2А-2D и 3А-3D; последовательности предпочтительных конструкций приведены в табл. 2А. Молекулы получали путем котрансфекции клеток НЕК293 EBNA, растущих в суспензии с векторами экспрессии млекопитающих, с использованием раствора на основе полимера. Для получения конструкций CrossFab-IgG2+1 клетки трансфицировали соответствующими векторами экспрессии в соотношении 1:2:1:1 ("вектор Fc (выступ)": "вектор легкой цепи": "вектор легкой цепи CrossFab": "вектор тяжелой цепи-CrossFab").

Пример 5. Комбинированное применение биспецифического антитела к ВСМА/CD3 Т-клеток с Соединением

Активация Т-клеток и высвобождение цитокинов.

Очищенные Т-клетки размораживают в среде RPMI 1640, содержащей 10% ФБС и 1 нг/мл IL-7 человека. Клетки подсчитывают на счетчике клеток Vi-CELL и разбавляют клеточной средой до 2×10^6 клеток/мл. Т-клетки восстанавливают в инкубаторе с 5% CO₂ при 37°C в течение ночи. Т-клетки обрабатывают биспецифическим антителом, специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (ВСМА) и CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, или соединением 1, соединением 2 или соединением 3 в качестве одного агента или в комбинации, в течение 24, 48 и 72 часов. Клетки собирают в каждый момент времени и анализируют с помощью анализа FACS на маркеры активации Т-клеток (CD25, CD69 и HLA-DR) на подмножествах CD3+ CD4+ и CD3+ CD8+. Культуральные среды также собирают в каждый момент времени и анализируют на цитокины с помощью платформ MesoScale Discovery или Luminex.

Совместные культуры эффекторных Т-клеток (Е) и опухолевых клеток (Т). Т-клетки и/или опухолевые клетки предварительно обработанные специфически связывающимся с антигеном созревания В-клеток человека (ВСМА) и с CD3ε человека (CD3), предложенными в данном документе, или одним агентом или комбинацией соединения 1, соединения 2 или соединения 3, совместно культивируют вместе с различными Е:Т-отношениями при 37°C, 5% CO₂ и оцениваются через 24, 48 или 72 ч для индуцированного Т-клетками уничтожения опухоли с помощью анализов FACS. Опухолевые клетки метят CFSE (5(6)-карбоксифлуоресцеин N-гидроксисукцинимидиловым эфиром) в соответствии с инструкциями производителя непосредственно перед началом анализа совместного культивирования. Кроме того, маркеры активации Т-клеток (CD25, CD69, HLA-DR) отслеживаются с помощью FACS на подмножествах CD3+ CD4+ и CD3+ CD8+.

В одном варианте осуществления комбинированное лечение демонстрирует повышенную глубину ответа в клетках, устойчивых к леналидомиду и/или помалидомиду, по сравнению с любым одним агентом по отдельности. В другом варианте осуществления комбинированное лечение демонстрирует синергетическую и/или аддитивную активность в отношении уничтожения миеломных клеток с низкой экспрессией ВСМА или ее отсутствием. Кроме того, комбинированное лечение демонстрирует увеличение активации Т-клеток и продукции цитокинов (таких как IL-2, IFN-гамма и TNF-альфа) по сравнению с одним агентом по отдельности.

Пример 6. Комбинированное применение биспецифического антитела к ВСМА/CD3 Т-клеток с Соединением

Совместное культивирование эффекторных Т-клеток (Е) и клеток-мишеней (Т) после предварительным лечением соединениями.

CD3+ Т-клетки выделяли из фракции мононуклеарных клеток периферической крови от здоровых

доноров с помощью магнитно-активированной сортировки клеток. Клетки размораживали в культуральной среде RPMI 1640 с добавлением 10% (об./об.) фетальной бычьей сыворотки (ФБС), заменимых аминокислот и пирувата натрия. Все культуры клеток и обработки клеток проводили в инкубаторе с температурой 37°C, 5% CO₂ в течение указанных периодов времени. Затем Т-клетки метили CFSE (сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина) в соответствии с инструкциями производителя и оставляли для восстановления в течение ночи в присутствии 1 нг/мл IL-7 человека. Т-клетки обрабатывали ДМСО (контроль) или соединением 2 в качестве единственного агента в течение 16 часов перед совместным культивированием. Клеточные линии множественной миеломы H929 и OPM-2 или клеточную линию лейкоза плазматических клеток (PCL) L363 метили фиолетовым красителем CellTrace™, затем предварительно обрабатывали ДМСО (контроль) или соединением 2 в качестве единственного агента в течение 72 ч. Затем Т-клетки и клетки-мишени промывали для удаления соединений и совместно культивировали в присутствии возрастающих концентраций биспецифического антитела, специфически связывающегося с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), как предложено в данном документе, в течение 72 часов при различных соотношениях эффекторных Т-клеток (Е) и клеток-мишеней (Т). Клетки собирали в конце совместного культивирования для анализа апоптоза и некроза клеток-мишеней с помощью проточной цитометрии с использованием набора для обнаружения апоптоза APC Annexin V с 7-AAD, следуя указаниям производителя (BioLegend). Результаты продемонстрировали, что предварительная обработка клеток-мишеней Соединением 2 значительно увеличивала эффективность биспецифического антитела (как для клеток H929, так и для клеток L363), а также максимальное уничтожение клеток-мишеней (для клеток H929), индуцированное биспецифическим антителом, как показано в тесте (фиг. 4А и 4В). В анализах цитотоксичности с клетками OPM-2 результаты показали, что обработка либо эффекторных Т-клеток, либо только клеток-мишеней Соединением 2 увеличивала активность и эффективность уничтожения клеток-мишеней биспецифическим антителом при тестировании (фиг. 4С). Для анализов цитотоксичности OPM-2 комбинация предварительной обработки эффекторных Т-клеток и предварительной обработки клеток-мишеней соединением 2 привела к наибольшему усилению и увеличению эффективности биспецифического антитела при тестировании (фиг. 4С).

Совместное культивирование эффекторных Т-клеток (Е) и клеток-мишеней (Т) с одновременной обработки соединениями.

CD3+ Т-клетки были выделены из фракций моноклеарных клеток периферической крови от трех разных здоровых доноров (доноров А, В и С) с использованием магнитно-активированной сортировки клеток. Клетки размораживали в культуральной среде RPMI 1640 с добавлением 10% (об./об.) ФБС, заменимых аминокислот, пирувата натрия и пенициллина/стрептомицина. Все культуры клеток и обработки проводили в инкубаторе с температурой 37°C, 5% CO₂ в течение указанных периодов времени. Затем Т-клетки метили CFSE (сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина) в соответствии с инструкциями производителя и оставляли для восстановления в течение ночи в присутствии 1 нг/мл IL-7 человека. Клеточную линию множественной миеломы H929 метили с помощью фиолетового красителя CellTrace™ и восстанавливали в течение ночи. Затем Т-клетки и клетки-мишени промывали и совместно культивировали в присутствии возрастающих концентраций биспецифических антител, специфически связывающихся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), представленными в данном документе, в течение 72 часов при фиксированной температуре, соотношении эффекторных Т-клеток (Е) и клеток-мишеней (Т) 1:3. Совместное культивирование в присутствии биспецифических антител проводили в присутствии ДМСО (контроль) или соединения 2. Клетки собирали в конце совместного культивирования для анализа апоптоза и некроза клеток-мишеней с помощью проточной цитометрии с использованием комплекта детекции апоптоза APC Annexin V с 7-AAD. Результаты продемонстрировали, что для всех протестированных доноров одновременное воздействие на клетки соединения 2 значительно увеличивало эффективность биспецифического антитела при тестировании, а также улучшало максимальную эффективность уничтожения клеток-мишеней, опосредованного биспецифическим антителом (фиг. 5).

Пример 7. Комбинированное применение биспецифического антитела к BCMA/ CD3 Т-лимфоцитов с соединением при множественной миеломе, устойчивой к леналидомиду

Совместное культивирование эффекторных Т-клеток (Е) и устойчивых к леналидомиду клеток-мишеней множественной миеломы (Т) после предварительной обработки соединениями.

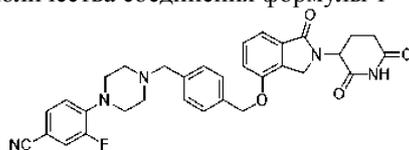
CD3+ Т-клетки выделяли из фракций моноклеарных клеток периферической крови от трех разных здоровых доноров (доноры D, E и F) с использованием сортировки магнитно-активированных клеток. Клетки размораживали в культуральной среде RPMI 1640 с добавлением 10% (об./об.) фетальной бычьей сыворотки (ФБС), заменимых аминокислот, пирувата натрия и пенициллина/стрептомицина. Все культуры клеток и обработки клеток проводили в инкубаторе с температурой 37°C, 5% CO₂ в течение указанных периодов времени. Затем Т-клетки метили CFSE (сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина) в соответствии с инструкциями производителя и оставляли для восстановления в течение ночи в присутствии 1 нг/мл IL-7 человека. Устойчивую к леналидомиду клеточную линию множественной миеломы H929-1051 получали путем длительного культивирования в присутствии возрастающих концентра-

ций леналидомида, как описано ранее (Ghandi et al. Br. J. Haematol. 2014 Jan; 164(2):233-44) используя описанные методы (Lopez-Girona et al. Leukemia. 2012 Nov;26(11):2326-35). Клетки H929-1051 метили фиолетовым красителем CellTrace™, затем предварительно обрабатывали ДМСО (контроль), помалидомидом или Соединением 2 в качестве единственного агента в течение 72 ч. Затем Т-клетки и клетки-мишени промывали для удаления соединения и совместно культивировали в присутствии возрастающих концентраций биспецифических антител, специфически связывающихся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA) и с CD3ε человека (CD3), представленными в данном документе, в течение 72 ч при фиксированной температуре, соотношении эффекторных Т-клеток (Е) и клеток-мишеней (Т) 1:3. Клетки собирали в конце совместного культивирования для анализа апоптоза и некроза клеток-мишеней с помощью проточной цитометрии с использованием комплекта детекции апоптоза APC Annexin V с 7-AAD, следуя указаниям производителя (BioLegend). Результаты продемонстрировали, что предварительная обработка устойчивых к леналидомиду клеток-мишеней H929-1051 соединением 2, но не предварительная обработка помалидомидом, увеличивала эффективность и максимальное уничтожение клеток-мишеней, индуцированное биспецифическим антителом при тестировании (фиг. 6). Данные свидетельствуют о том, что данная клеточная линия также устойчива к помалидомиду.

Варианты осуществления, описанные выше предназначены только в качестве примеров и специалистам в данной области будет понятно или они смогут установить, используя не более чем рутинные эксперименты, многочисленные эквиваленты конкретных соединений, материалов и методик. Предполагается, что такие эквиваленты включены в объем данного изобретения и охватываются прилагаемой формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения множественной миеломы, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы 1



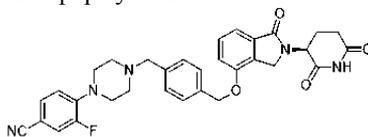
1

или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли;

в комбинации с биспецифическим антителом, содержащим первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), причем указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

2. Способ лечения множественной миеломы, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества соединения формулы 2



2

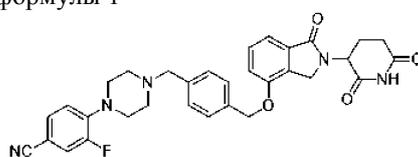
или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли;

в комбинации с биспецифическим антителом, содержащим первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), причем указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
- ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
- iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28.

3. Способ по п.1 или 2, в котором множественная миелома является рецидивирующей, рефрактерной или устойчивой.

4. Способ по п.3, в котором множественная миелома является рефрактерной или устойчивой к леналидомиду.
5. Способ по п.3, в котором множественная миелома является рефрактерной или устойчивой к помалидомиду.
6. Способ по п.1 или 2, в котором множественная миелома является впервые диагностированной множественной миеломой.
7. Способ по п.1 или 2, в котором множественная миелома является лейкозом плазматических клеток.
8. Способ по любому из пп.1-7, в котором соединение вводят перед введением биспецифического антитела.
9. Способ по любому из пп.1-7, в котором соединение вводят одновременно с биспецифическим антителом.
10. Способ по любому из пп.1-7, в котором соединение вводят после введения биспецифического антитела.
11. Способ по любому из пп.1-10, дополнительно включающий введение дополнительного активного агента.
12. Применение соединения формулы 1

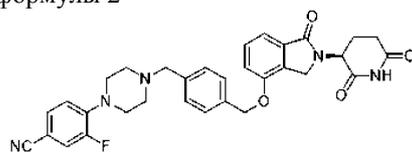


1

или его энантиомера, смеси энантиомеров, таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли в комбинации с биспецифическим антителом, содержащим первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), причем указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
 - ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
 - iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28,
- для лечения множественной миеломы.

13. Применение соединения формулы 2



2

или его таутомера, изотополога или фармацевтически приемлемой соли в комбинации с биспецифическим антителом, содержащим первую связывающую часть, специфически связывающуюся с антигеном созревания В-клеток человека (BCMA), и вторую связывающую часть, специфически связывающуюся с CD3ε человека (CD3), причем указанная первая связывающая часть содержит 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:

- i) область CDR1L с SEQ ID NO: 23 и область CDR2L с SEQ ID NO: 24,
 - ii) область CDR1L с SEQ ID NO: 25 и область CDR2L с SEQ ID NO: 26 или
 - iii) область CDR1L с SEQ ID NO: 27 и область CDR2L с SEQ ID NO: 28,
- для лечения множественной миеломы.

14. Применение по п.12 или 13, в котором множественная миелома является рецидивирующей, рефрактерной или устойчивой.

15. Применение по п.14, в котором множественная миелома является рефрактерной или устойчивой к леналидомиду.

16. Применение по п.14, в котором множественная миелома является рефрактерной или устойчивой к помалидомиду.

17. Применение по п.12 или 13, в котором множественная миелома является впервые диагностированной множественной миеломой.

18. Применение по п.12 или 13, в котором множественная миелома является лейкозом плазматиче-

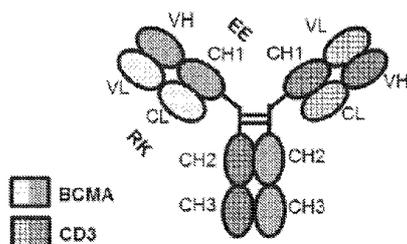
ских клеток.

19. Применение по любому из пп.12-18, в котором соединение вводят перед введением биспецифического антитела.

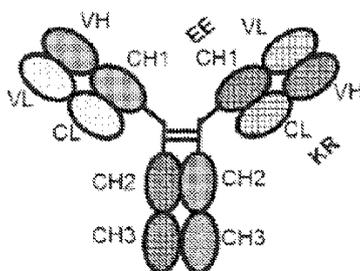
20. Применение по любому из пп.12-18, в котором соединение вводят одновременно с биспецифическим антителом.

21. Применение по любому из пп.12-18, в котором соединение вводят после введения биспецифического антитела.

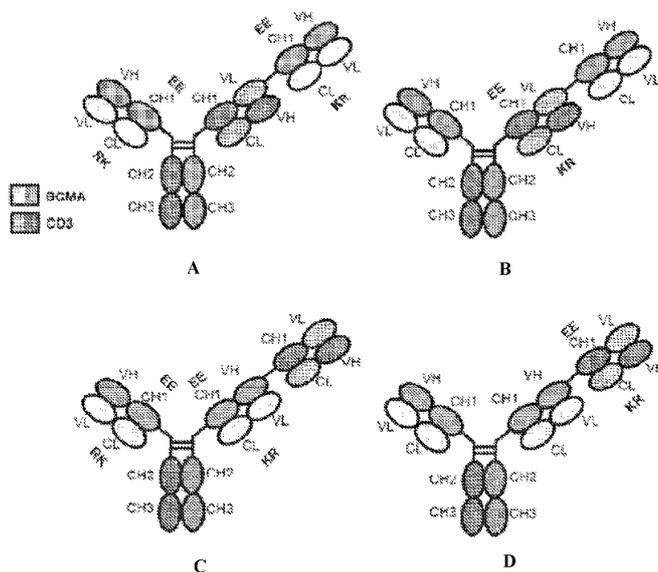
22. Применение по любому из пп.12-21, в котором соединение применяют также в комбинации с дополнительным активным агентом.



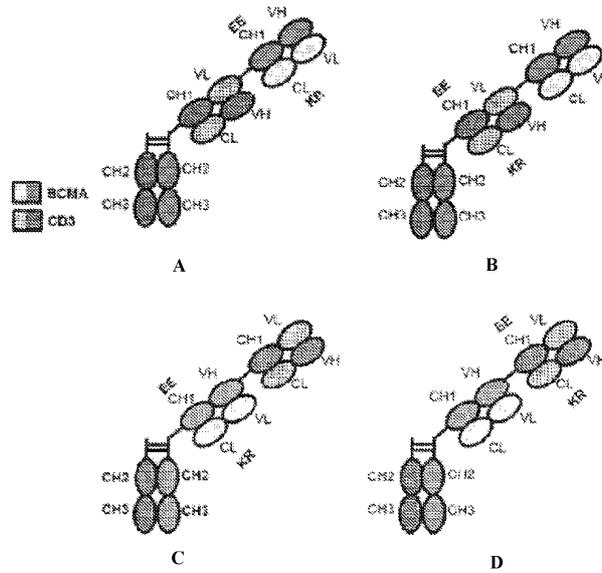
Фиг. 1А



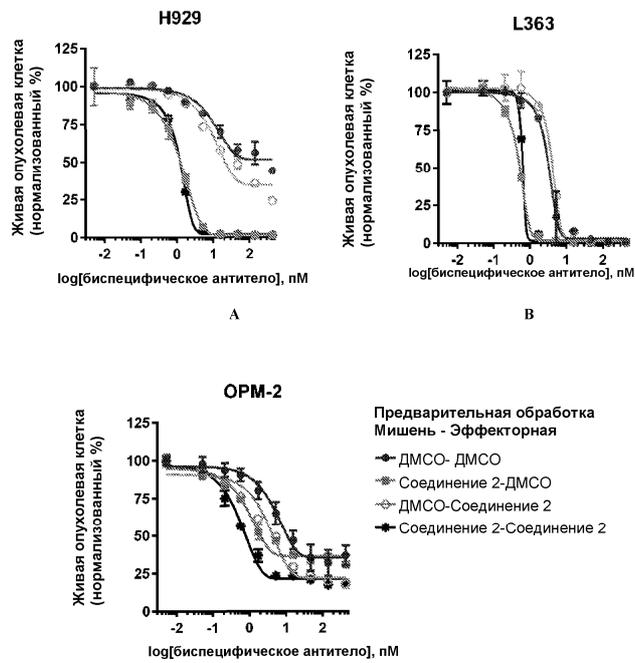
Фиг. 1В



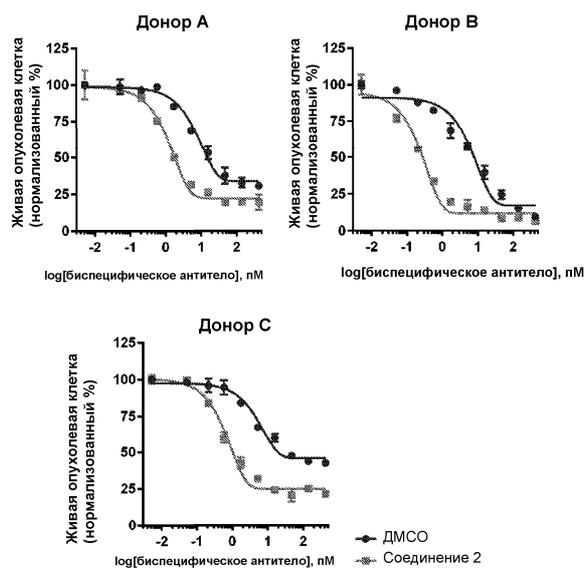
Фиг. 2А-Д



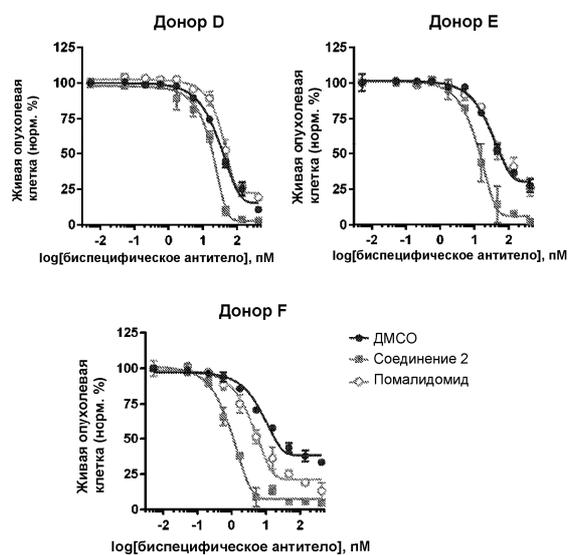
Фиг. 3А-D



Фиг. 4А-С



Фиг. 5



Фиг. 6